ROYAL COLLEGE OF
PHYSICIANS

REFERENCE LIBRARY FOR THE
USE OF THE CENSORS AND
OTHER EXAMINERS

THE GIFT OF
SIR ANDREW CLARK, BART.
M.D., F.R.S., LL.D
PRESIDENT
1890

SL126-2-h-2 611-018



D BY ZAEHNSDORF.

Digitized by the Internet Archive
in 2015

https://archive.org/details/b24757949

TRAITÉ TECHNIQUE

D'HISTOLOGIE

DU MÊME AUTEUR

LEÇONS

SUR

L'HISTOLOGIE

DU

SYSTÈME NERVEUX

PROFESSÉES AU COLLÈGE DE FRANCE

2 VOLUMES GRAND IN-8° DE 700 PAGES

AVEC GRAVURES DANS LE TEXTE ET 12 PLANCHES CHROMOLITHOGRAPHIÉES

Prix : 10 francs

17050 — Imprimerie A. Lahure, 9, rue de Fleurus, à Paris.

TRAITÉ TECHNIQUE

D'HISTOLOGIE

PAR

L. RANVIER

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR D'ANATOMIE GÉNÉRALE AU COLLÈGE DE FRANCE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

DEUXIÈME ÉDITION REVUE, CORRIGÉE ET AUGMENTÉE

AVEC 414 GRAVURES DANS LE TEXTE

ET UNE PLANCHE CHROMOLITHOGRAPHIÉE

PARIS

LIBRAIRIE F. SAVY

77, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 77

1889

Tous droits réservés

ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS
LIBRARY
CLASS 611-018
ACC. 24731
SOURCE
DATE

TRAITÉ TECHNIQUE

D'HISTOLOGIE

LIVRE PREMIER

INSTRUMENTS, RÉACTIFS ET MÉTHODES GÉNÉRALES

INSTRUMENTS ET RÉACTIFS

Il est nécessaire, avant d'entrer dans le domaine de l'histologie proprement dite, de dire quelques mots des instruments dont on se sert dans cette science et des qualités qu'il est indispensable d'y rencontrer pour pouvoir les employer à une étude sérieuse des tissus. Le microscope, avec tous les accessoires nécessaires de l'observation microscopique, est certainement le plus important de ces instruments. C'est en grande partie aux perfectionnements qui ont été apportés dans sa construction que l'histologie doit ses progrès récents; aussi commencerons-nous par le décrire. Nous dirons les qualités qu'il doit avoir et le moyen de les reconnaître: puis nous en indiquerons brièvement le maniement, c'est-à-dire la façon d'observer les objets à l'aide du microscope. Nous décrirons ensuite les accessoires que l'on emploie souvent : platine chauffante, appareils à polarisation, etc.

Après cela nous indiquerons les autres instruments nécessaires à l'histologiste : pinces, ciseaux, etc.

Dans un troisième chapitre, nous passerons en revue les réactifs chimiques usités en histologie.

CHAPITRE PREMIER

MICROSCOPE

Nous supposerons connues la théorie des phénomènes lumineux et la théorie optique du microscope. Nous ne voulons insister ici que sur quelques points spéciaux, utiles dans la pratique pour l'observateur.

LOUPE ET MICROSCOPE SIMPLE

La loupe, qui est l'instrument de grossissement le plus simple, est une lentille plan convexe ou biconvexe. Un objet placé entre la loupe et le foyer principal paraît droit et grossi. Il présente des déformations et, sur ses contours, des bandes colorées.

Les déformations sont de deux espèces : l'image est obscure et confuse, c'est ce qu'on nomme l'aberration sphérique; ou bien elle est concave ou convexe, c'est l'aberration de forme.

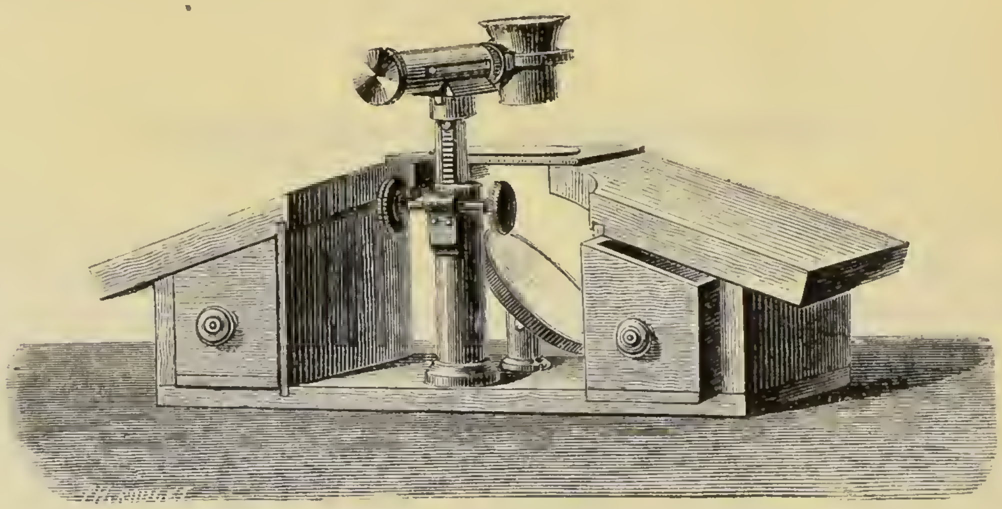


Fig. 1. — Modèle de microscope simple pour la dissection.

Aberration sphérique. — L'aberration sphérique tient à ce que les rayons marginaux sont plus fortement réfractés que les rayons centraux et forment leur foyer en un point plus rapproché de la lentille.

Aberration de forme. — L'aberration de forme qui, souvent a été confondue avec la précédente, en est absolument distincte. Elle consiste en ce que les rayons qui partent des parties de l'objet, situées au bord du champ visuel, vont se réunir plus loin ou moins loin que les autres; de cette façon, l'image d'un objet plan paraîtra concave ou convexe, et sur un écran à surface plane, on ne pourra réunir qu'une partie de cette image ; certaines parties seront nettes, d'autres indistinctes; en abaissant ou élevant la

lentille, les points qui étaient nets paraîtront confus et réciproquement, de telle sorte qu'avec une loupe ne présentant pas d'aberration sphérique, mais une simple aberration de forme, il sera possible d'avoir une vue distincte des différentes parties, rien qu'en faisant varier le foyer.

Ainsi, dans l'aberration sphérique, chaque point de l'objet est vu d'une façon diffuse; dans l'aberration de forme, lorsqu'il n'y a pas complication d'aberration sphérique, chaque point donne une image nette, mais l'ensemble des différents points ne produit pas une image sur une surface plane.

Aberration chromatique. — Une troisième aberration est l'aberration chromatique, due à l'inégalité de réfrangibilité des différentes irradiations colorées de la lumière. Les rayons violets sont bien plus réfrangibles que les rouges: de là vient que l'image donnée par une loupe formée par un seul verre présente toujours sur ses bords des zones colorées.

Cette aberration se corrige par la combinaison de deux lentilles, l'une de *crown-glass*, l'autre de *flint-glass*, dont le pouvoir dispersif est différent et qui, par leur association, peuvent donner une lentille convergente ne présentant pas l'aberration chromatique, ou ne la possédant qu'à un très faible degré.

Quant à l'aberration de sphéricité, elle se corrige en associant plusieurs lentilles à faible courbure, dont l'ensemble agit comme une seule lentille de courbure beaucoup plus forte.

Doublets. — Les lentilles ainsi composées se nomment doublets : elles ont l'inconvénient d'avoir un foyer très court dès que l'on veut obtenir un grossissement de 5 ou 6 diamètres; or il est important d'avoir un long foyer lorsqu'on veut agir sur un objet examiné à la loupe, soit pour le disséquer, soit pour lui donner diverses positions par rapport à l'œil de l'observateur.

On donne le nom de microscope simple à une loupe montée solidement sur un pied et dans laquelle les aberrations dont nous venons de parler ont été corrigées.

Loupe de Brücke. — Chevalier a construit une loupe qui a été reprise et améliorée par Brücke; elle porte aujourd'hui le nom de ce dernier auteur. Cette loupe se compose d'un objectif plan convexe achromatique, et d'un oculaire constitué par une lentille biconcave. Une loupe de Brücke bien construite doit avoir une distance focale de 6 centimètres au moins, un champ complètement plan, et fournir une image achromatique dont les bords soient bien précis. — Cet instrument est disposé de telle façon qu'en éloignant les deux lentilles on peut augmenter le grossissement.

MICROSCOPE COMPOSÉ

Le microscope composé diffère du microscope simple, en ce qu'il donne des images beaucoup plus grandes et renversées. Nous en étu-

dierons successivement les parties optiques et les parties mécaniques[1].

Parties optiques. — Les parties optiques essentielles qui constituent un microscope composé sont : l'objectif, l'oculaire, le miroir pour éclairer les corps transparents, et la loupe pour éclairer les corps opaques.

1° *Objectif*. — L'objectif est en réalité un microscope simple, constitué par une série de lentilles achromatiques superposées. Dans le microscope composé, il agit cependant d'une manière toute différente; il produit une

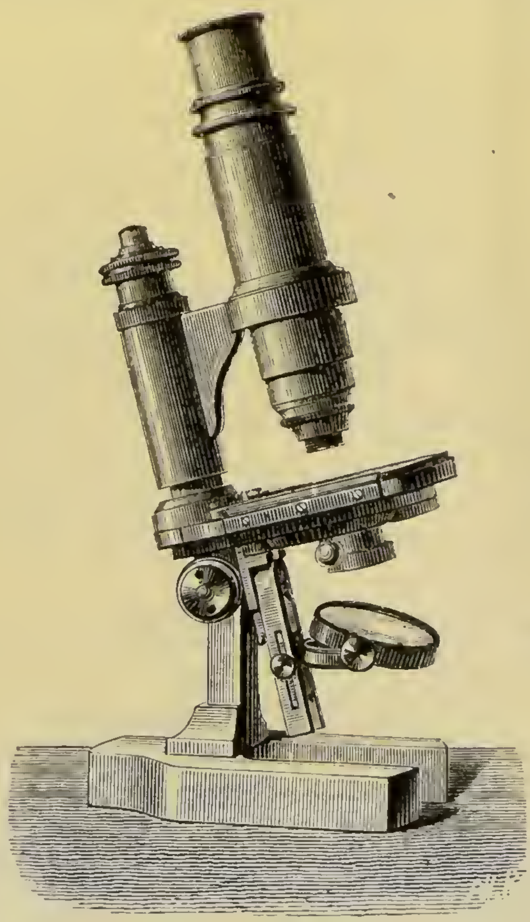


Fig. 2. — Microscope composé.

image réelle à une hauteur variable suivant la distance de l'objet à la lentille. Soit un objet *ab* (fig. 5); un peu au delà du foyer principal de la lentille, cet objet donnera en *a'b'* une image réelle et renversée.

Pour prouver qu'il en est réellement ainsi, il suffit de débarrasser le microscope de son oculaire, que l'on remplace par une chambre noire munie d'un écran en verre dépoli, et de chercher l'image en abaissant ou en relevant l'écran, comme le font les photographes dans ce qu'ils nomment la mise au point. Une fois l'image obtenue dans sa netteté, si, au moyen de la vis micrométrique, on rapproche l'objectif de l'objet, on voit que l'image grandit et se produit plus loin, c'est-à-dire qu'il faut éloigner l'écran pour la retrouver dans sa netteté; si, au contraire, on éloigne l'objectif de l'objet,

1. Pour toute la description qui va suivre, nous supposons que le lecteur a un microscope devant les yeux.

il faut abaisser l'écran pour retrouver dans sa netteté une image plus petite que la première.

Le tracé des rayons lumineux rend compte de cette différence; supposons, en effet, l'objet *ab* transporté en *mn*, à une distance un peu plus grande de la lentille, on voit que l'image se produira en *m'n'*, c'est-à-dire moins loin que *a'b'*, et qu'elle sera plus petite.

Ce fait trouvera son application à propos de la mise au point du microscope.

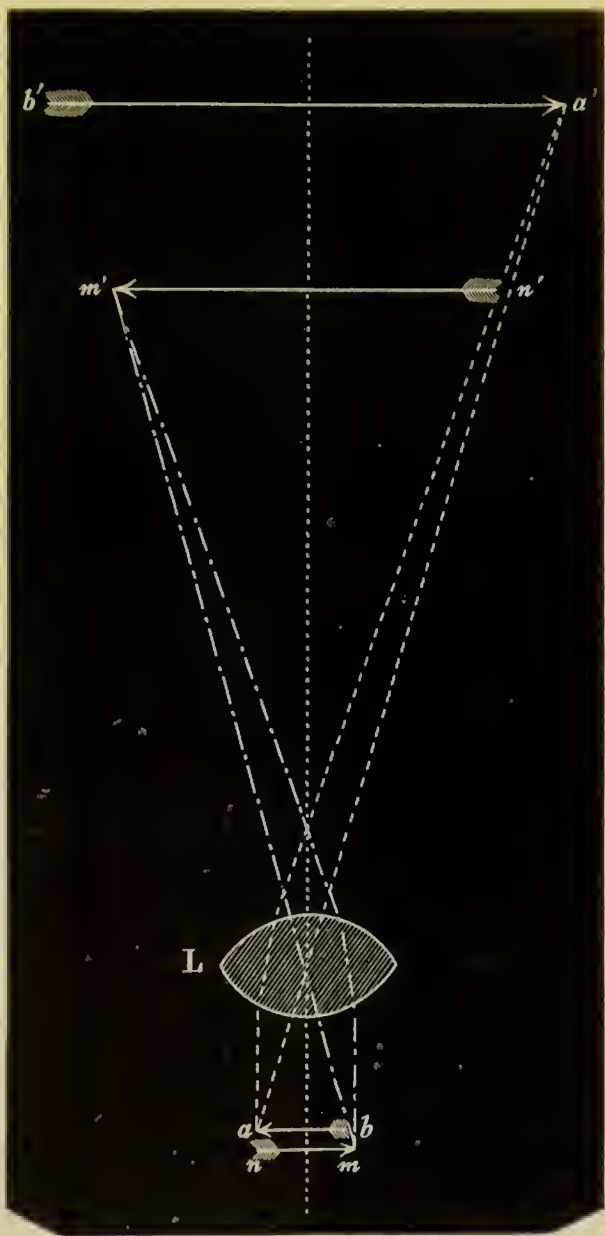


Fig. 5.

2° *Oculaire.* — Autrefois l'oculaire se composait d'une seule lentille, qui agissait sur l'image réelle comme une loupe simple sur un objet. Un grand perfectionnement a été de le remplacer par un oculaire composé de deux lentilles plus ou moins éloignées : l'une, supérieure, est la lentille oculaire proprement dite; l'autre, inférieure, est la lentille collective. L'oculaire ne peut plus dès lors être considéré comme une simple loupe agissant sur l'image réelle pour l'agrandir.

Lentille de champ. — Les avantages de cette lentille de champ sont de deux espèces. Lorsque les rayons lumineux ont traversé l'objectif, ils vont en divergeant à partir du foyer et forment un cône; plus la lentille qui constitue l'oculaire sera distante du sommet de ce cône, moins elle recevra de rayons lumineux. La lentille de champ, qui est plus rapprochée de l'objectif que la lentille oculaire proprement dite, recueille des rayons lumineux qui n'arriveraient pas à l'oculaire, et, en modifiant leur direction, les fait passer par l'oculaire et arriver à l'œil de l'observateur.

La lentille de champ a encore un autre avantage : les opticiens combinent sa construction de manière à corriger l'aberration de forme dont nous avons parlé plus haut. Nous avons vu en effet que l'image produite par l'objectif peut être courbe; à l'aide de la lentille de champ, on arrive à

la redresser; on peut même dépasser la correction, et il se produit alors une image courbée en sens inverse.

L'oculaire peut donc servir à corriger l'aberration de forme, mais il ne saurait servir à corriger l'aberration sphérique de l'objectif.

3° *Loupe.* — La loupe, fixée par une monture à la douille de l'instrument, sert à éclairer les objets opaques; mais il n'est pas possible de l'employer avec les objectifs forts, parce que leur monture projetterait de l'ombre sur la préparation.

4° *Miroir.* — Le miroir placé au-dessous de la platine est destiné à éclairer par transmission les objets transparents; il sert beaucoup plus souvent que la loupe. Il est plan ou concave. Le miroir plan s'emploie avec les faibles grossissements; le miroir concave avec les grossissements considérables; ce dernier donne un faisceau lumineux conique dont la pointe vient éclairer l'objet, tandis que le miroir plan donne des rayons parallèles.

Le miroir peut être placé de manière que son centre corresponde à l'axe optique de l'instrument, ou bien il peut être disposé obliquement : on a dans ce cas ce qu'on appelle la lumière oblique.

5° *Condensateurs.* — Enfin, pour éclairer très vivement les objets, on se sert de lentilles ou de systèmes de lentilles disposés au-dessous de la platine du microscope, et qui se nomment des condensateurs. Il y en a de deux espèces : les uns, imaginés par Dujardin, donnent un faisceau lumineux à rayons convergents se réunissant sur l'objet; les autres, construits par Hartnack, donnent un faisceau à rayons parallèles; ce parallélisme des rayons s'obtient en les faisant passer par une série de lentilles disposées à cet effet.

Aujourd'hui on emploie beaucoup le condensateur d'Abbe qui est au condensateur de Dujardin ce qu'un objectif à grand angle d'ouverture est à un objectif à petit angle d'ouverture. De plus, dans cet appareil, la lentille la plus rapprochée du miroir ayant un grand diamètre, un plus grand nombre de rayons lumineux peuvent être condensés.

Le condensateur d'Abbe permet d'avoir un éclairage extrêmement intense, en noyant, pour ainsi dire, le contour des objets dans la lumière, de telle sorte que leur image devient très vague, à moins qu'ils ne soient très colorés. Il suit de là que, dans une préparation où il y a des objets extrêmement petits, vivement et seuls colorés, ces objets se montrent dans cette lumière avec une grande évidence. On emploie ces objectifs avec avantage quand on veut étudier des microbes très colorés au sein des tissus.

Parties mécaniques. — Le microscope présente en outre des parties purement mécaniques : la platine, la monture du miroir, le tube sur lequel sont adaptés les objectifs et les oculaires, etc.

Platine. — La platine est la petite table sur laquelle repose l'objet soumis à l'observation; elle est percée d'un trou central pour laisser passer les rayons lumineux. Il est nécessaire de pouvoir en diminuer à volonté la grandeur. Pour cela, au-dessous de la platine est adaptée une plaque tournante munie de diaphragmes de dimensions variées.

Diaphragmes. — Cette disposition n'est pas suffisante pour l'examen des objets d'observation difficile : les diaphragmes de petite ouverture sont rarement assez bien centrés, c'est-à-dire qu'ils se trouvent rarement tout à fait dans l'axe optique du système des lentilles. De plus, ces diaphragmes sont toujours à la même distance de la platine; on ne peut ni les rapprocher ni les éloigner. C'est pour cela que, dans les microscopes bien construits, il y a des diaphragmes cylindriques bien ajustés qui sont reçus dans le trou même de la platine; ils peuvent être élevés ou abaissés à volonté, sans qu'il se produise un défaut de centration. Ils offrent de plus l'avantage de pouvoir être remplacés par un condensateur ou un appareil à polarisation.

La monture du miroir n'est point indifférente; il faut qu'il puisse se déplacer dans diverses directions, soit latéralement, soit verticalement. La disposition la plus avantageuse consiste dans la combinaison de deux articulations dites à genou par les constructeurs; cette disposition permet toutes les positions possibles du miroir dans l'axe du microscope et en dehors de l'axe.

Le miroir doit avoir deux faces, une plane et une concave, pour que l'on puisse les employer alternativement.

Corps du microscope. — Le corps du microscope, aux extrémités duquel sont adaptés les objectifs et les oculaires, est constitué par deux tubes en cuivre, qui doivent glisser l'un sur l'autre à frottement doux, de manière qu'on puisse faire varier la distance entre l'objectif et l'oculaire.

La manière dont le corps du microscope est adapté à l'instrument est variable; le plus généralement il glisse dans une douille fixée au pied de l'instrument, et fendue dans sa longueur pour présenter une élasticité qui régularise et adoucisse le frottement. Dans certains microscopes, le mouvement du tube s'effectue au moyen d'une crémaillère.

Vis micrométrique. — Quant aux mouvements lents qui établissent d'une manière nette le point exact, on les obtient au moyen d'une vis micrométrique très bien construite, qui agit tantôt sur un cylindre creux qui glisse sur un axe cylindrique, tantôt sur un prisme triangulaire qui glisse dans une ouverture prismatique. La disposition prismatique vaut mieux; elle empêche les déplacements latéraux de se produire. Un ressort à boudin maintient le tube du microscope à la plus grande distance que permet la vis micrométrique et le fixe dans cette position.

Pour qu'une vis micrométrique fonctionne bien, il faut qu'il n'y ait pas d'irrégularités de frottement et que le ressort à boudin agisse d'une manière constante. Ces conditions sont importantes. En effet, dans l'observation microscopique, la main vient au secours de l'œil. La mise au point qu'elle produit en agissant sur le bouton de la vis micrométrique remplace l'accommodation. Pendant qu'elle fonctionne, le muscle ciliaire se repose; mais cela, à une condition : c'est que la construction de tout l'appareil soit très bonne. Alors, le micrographe, en faisant varier le lieu de son observation, arrive sans difficulté à voir successivement les différents détails compris dans l'épaisseur de la préparation et à se rendre parfaitement compte de la forme de l'objet qu'il examine.

Maniement du microscope. — La première chose à faire, quand on veut se servir d'un microscope, c'est de s'assurer que toutes les lentilles et les miroirs sont parfaitement propres; pour cela, il faut les passer en revue successivement.

Nettoyage des verres. — Si les faces libres de l'oculaire ne sont pas bien nettes, le meilleur moyen de les nettoyer est de les essuyer avec un morceau de moelle de sureau fraîchement cassé, sur lequel il n'y a encore aucune poussière ni aucun corps étranger qui pourrait rayer le verre. S'il y a de la poussière sur la face interne des lentilles, il est facile de les dévisser et de les essuyer de même avec un fragment de moelle de sureau. Les faces libres des lentilles de l'objectif seront nettoyées de la même façon. Quant aux faces cachées des lentilles, si l'on y aperçoit de la poussière, il ne faut essayer de les dévisser et de les nettoyer soi-même que si l'on est expert dans la partie; autrement il vaut mieux porter l'objectif chez un opticien et le prier de le nettoyer. Il faut aussi que le miroir soit parfaitement pur; on l'essuie avec un linge fin. Quand on se sert des condensateurs, on les examine et on les nettoie comme les objectifs.

Choix de la lumière. — Lorsque le microscope est bien net, il faut choisir sa lumière.

On éclaire généralement le miroir avec la lumière naturelle; pour cela, on y fait tomber les rayons lumineux venant, non pas directement du soleil, mais d'un point du ciel assez clair, un nuage gris ou blanc par exemple.

Il arrive souvent aux personnes qui n'ont pas une grande habitude de l'éclairage au microscope, de trouver difficilement une bonne position du miroir. Elles perdent ainsi beaucoup de temps, et souvent n'arrivent pas à éclairer convenablement le champ du microscope. Pour obvier à cet inconvénient, il faut enlever le tube et chercher, en regardant directement, quel est le point du ciel le plus lumineux. On a ainsi orienté son microscope, et il suffit de remettre le tube dans la douille sans rien changer à la position de l'instrument. Cette manœuvre est surtout utile avec les objectifs forts. Dans certains cas, il est important que le miroir soit parfaitement centré, c'est-à-dire que son centre soit exactement dans l'axe optique du microscope. Pour s'assurer qu'il est en effet dans cette position, il faut examiner une bulle d'air dans l'eau, en mettant l'objectif au point pour sa partie supérieure. Si le miroir n'est pas bien centré, les différentes zones de l'image n'auront pas des bords parallèles; il faudra faire varier la position du miroir jusqu'à ce que l'image soit bien régulière. Il sera certain alors que le centre du miroir est dans l'axe optique de tout l'instrument.

Lumière artificielle. — Dans des cas pressants, on peut aussi travailler à la lumière artificielle. La meilleure des lumières artificielles employées aujourd'hui pour l'éclairage du microscope est connue sous le nom de lumière à l'albo-carbon. Le gaz d'éclairage traverse un réservoir contenant de la naphtaline avant d'arriver au brûleur. La flamme de ces lampes est d'une blancheur éclatante et d'une fixité remarquable; on y prend directement la

lumière. Il n'est point du tout nécessaire d'en concentrer les rayons ou de les rendre parallèles au moyen d'une lentille.

Mise au point. — Lorsque l'on a trouvé une bonne lumière, il s'agit de mettre l'instrument au point. On fait glisser le tube soit directement avec les mains, soit avec une crémaillère, si le microscope en possède une. Quand on en a quelque habitude, on préfère généralement le glissement direct. Lorsque le microscope est neuf, le glissement est facile et régulier; mais au bout de quelque temps, il s'accumule entre la douille et le tube des parcelles de cuivre détachées par le frottement, des poussières, des matières grasses ou salines provenant des doigts, etc. Par suite du glissement, cette crasse se forme en rouleaux qui gênent le mouvement. Il se produit des résistances qui amènent des ressauts brusques, et le mouvement n'est plus régulier. Le meilleur moyen pour enlever cette crasse est de frotter le tube du microscope et la douille avec un papier poreux.

Il ne faut point enfoncer directement le tube du microscope, mais le faire tourner en même temps, de manière à lui imprimer un mouvement en hélice. Avec un peu d'habitude, on arrive à mettre à peu près au point, c'est-à-dire à voir l'objet, sans s'être servi de la vis. Il faut ensuite tourner la vis micrométrique très lentement, de manière à arriver à la vision distincte : du reste, tout en observant, il faut garder la main sur le bouton de la vis, de manière à voir successivement, par un déplacement léger de l'objectif, les points de l'objet situés plus ou moins profondément. Lorsque l'on fait usage des objectifs forts, la mise au point est une opération beaucoup plus délicate qu'avec de faibles grossissements. En effet, dans ces cas, le plus léger déplacement de l'objectif, celui, par exemple, qui correspond à $\frac{1}{20}$ ou à $\frac{1}{50}$ de tour de la vis, change totalement l'aspect des objets que l'on examine; il faut donc apporter une très grande précaution au mouvement de la vis, et cela d'autant plus que l'objectif, ayant un court foyer, touche presque la préparation, et qu'un mouvement un peu trop considérable de la vis fait porter l'objectif sur le verre recouvrant, qui écrase la préparation ou qui se brise.

Mise au point au moyen de l'oculaire. — Nous avons imaginé, pour obvier à cet inconvénient, d'arriver à la mise au point par le déplacement, non pas de l'objectif ou du corps du microscope tout entier, mais simplement par le déplacement de l'oculaire. Nous nous servons pour cela d'un appareil très simple (fig. 4). Il consiste en deux anneaux en laiton, reliés entre eux par une crémaillère au moyen de laquelle on peut augmenter ou diminuer la distance qui les sépare. Le premier de ces anneaux, *a*, s'ajuste au haut du tube du microscope; dans le second, *b*, on fixe l'oculaire que l'on peut, de cette façon, faire plonger plus ou moins dans le tube du microscope en manœuvrant le bouton de la crémaillère. En nous servant de ce petit instrument avec des objectifs forts, comme, par exemple, avec le nº 10 à immersion de Hartnack, nous avons constaté que l'on dispose, pour effectuer la mise au point, d'une étendue beaucoup plus considérable que lorsqu'on déplace l'objectif; c'est-à-dire qu'un changement dans l'image, obtenu avec $\frac{1}{20}$ ou $\frac{1}{50}$ de tour de la vis

ordinaire, n'est obtenu avec le déplacement de l'oculaire que par un tour tout entier du bouton de la crémaillère. C'est là un avantage très grand. La difficulté de l'observation avec les forts grossissements et la fatigue qui en résulte sont en effet dues en grande partie à la difficulté de mettre exactement au point. L'œil de l'observateur essaye dans ce cas de compléter ce qui manque à l'instrument et de s'accommoder le mieux possible; c'est cet effort d'accommodation fatigant qui est évité par le déplacement de l'oculaire. Un autre côté avantageux de ce procédé, c'est qu'avec la mise au point très exacte que l'on obtient ainsi, il est beaucoup plus facile de se rendre compte de la superposition des plans pour des objets très petits, de savoir par exemple si une fibrille proche d'une cellule passe au-dessous ou se fond avec elle. Comme l'oculaire doit être déplacé d'une façon très appréciable pour changer d'une très petite quantité le point de la vue distincte, on arrive, grâce à ce petit instrument, à résoudre plus facilement quelques problèmes encore discutés.

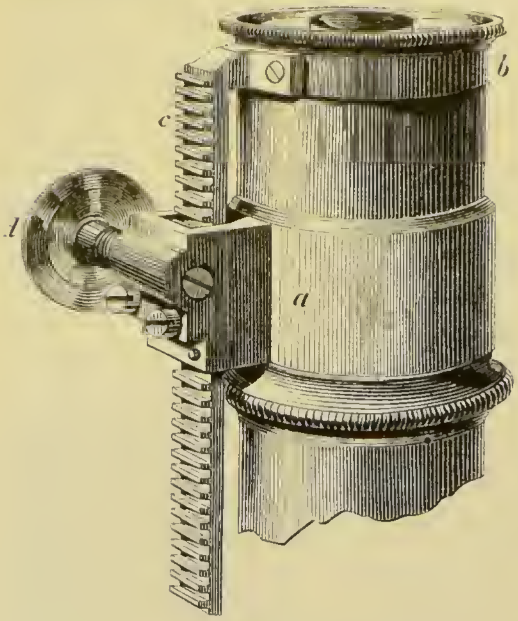


Fig. 4.
Crémaillère micrométrique oculaire pour la mise au point.

Aspect des objets au microscope. — Les objets peuvent être examinés sous le microscope soit à la lumière directe, soit à la lumière transmise.

Lumière directe. — A la lumière directe, on voit les objets comme dans le monde extérieur, sauf qu'ils sont renversés et dès lors paraissent avoir leur ombre du côté d'où vient la lumière. On se servait beaucoup autrefois de la lumière directe; on l'employait souvent pour étudier les préparations microscopiques injectées, lorsqu'on n'avait, comme masses d'injection, que des matières colorées opaques; maintenant que l'on se sert presque exclusivement de masses transparentes, les préparations où les vaisseaux sont injectés doivent aussi être étudiées à la lumière transmise.

Lumière transmise. — Franges de diffraction. — La lumière transmise donne lieu à des phénomènes de diffraction qu'il est essentiel de connaître, parce qu'ils peuvent prêter à des erreurs et à de fausses interprétations des images que donnent les objets.

Si, comme on le sait, on fait entrer dans une chambre noire, par une petite ouverture, un faisceau lumineux et que l'on place sur son trajet un corps plus petit que l'ouverture de la chambre, l'ombre de ce corps recueillie sur un écran n'est pas absolument nette : elle est entourée de bandes alternativement claires et obscures, auxquelles on a donné le nom de franges de diffraction. On doit distinguer les franges de diffraction qui se produisent

en dehors de l'ombre de celles qui se manifestent en dedans : franges extérieures et franges intérieures. Notons que les objets que l'on observe au microscope, une cellule, une fibre par exemple, éclairés par le miroir, surtout lorsque l'on place un diaphragme à très petite ouverture, se trouvent dans les conditions où se produisent les franges de diffraction extérieures et intérieures. Il faut bien se garder de les prendre pour l'expression optique d'une disposition anatomique. Les franges disparaissent quand on enlève le diaphragme. Si l'on concevait quelques doutes, on éclairerait successivement avec les lumières monochromatiques jaune et bleue. La lumière jaune accuse les franges de diffraction en les écartant ; la lumière bleue les rapproche.

De l'influence des milieux sur l'aspect des objets. — Les tissus soumis à l'examen microscopique doivent le plus souvent être observés dans un milieu liquide. Ils sont en effet pour la plupart humides à l'état normal, et la dessiccation les déforme en les faisant revenir sur eux-mêmes ; d'autre part, l'air, venant à s'introduire dans les interstices de ces tissus, change complètement leur aspect, par suite des phénomènes optiques auxquels donne lieu la différence de son indice de réfraction avec celui des tissus.

Or, suivant le milieu dans lequel est plongé un objet, il est vu d'une façon tout à fait différente. S'il est placé dans un milieu qui ait le même indice de réfraction que lui, il n'existe pas pour l'œil ; dans un milieu moins réfringent, il a les caractères d'un corps solide ; dans un milieu plus réfringent, ceux d'un creux.

Une expérience facile à faire, rend le phénomène très saillant.

On prend trois flacons semblables remplis, le premier d'eau, le second de sulfure de carbone, le troisième de baume du Canada. A travers le bouchon qui ferme chacun d'eux, on fait passer une baguette de verre qui plonge dans le liquide.

En regardant à travers le flacon qui contient de l'eau, cette baguette paraît solide ; dans le flacon au sulfure de carbone, elle paraît creuse, et dans le flacon au baume de Canada, on ne la voit pas du tout. Les indices de réfraction des différents corps employés dans cette expérience nous permettent de nous rendre compte de tous ces phénomènes. En effet, le baume du Canada a à peu près le même indice de réfraction que le verre, 1,565, et l'indice du sulfure de carbone est, 1,640.

Analyse optique des bulles d'air et des globules de graisse. — Pour nous rendre compte de l'influence des milieux sur la manière dont on voit les objets au microscope, nous allons étudier des corps d'une forme déterminée dans un milieu plus réfringent, et ensuite dans un milieu moins réfringent qu'eux-mêmes. Nous allons faire l'analyse optique d'une bulle d'air dans l'eau, d'une bulle d'air dans le baume du Canada et enfin d'un globule de graisse dans l'eau.

Bulle d'air dans l'eau. — On emprisonne dans l'eau, entre la lame et la lamelle, une bulle d'air assez petite pour qu'elle ne soit pas comprimée, et qu'elle garde une forme sphérique. On place la lame sur la platine ; au-

dessous, à 5 millimètres environ de la bulle (en comptant l'épaisseur de la lame de verre et celle de la platine), on met un diaphragme d'environ 2/5 de millimètre d'ouverture, et l'on éclaire avec le miroir concave bien centré.

En mettant l'objectif au point pour le centre de la bulle, ce qui se reconnaît à ce que ses bords sont bien nets (fig. 5, B), le centre de l'image est très

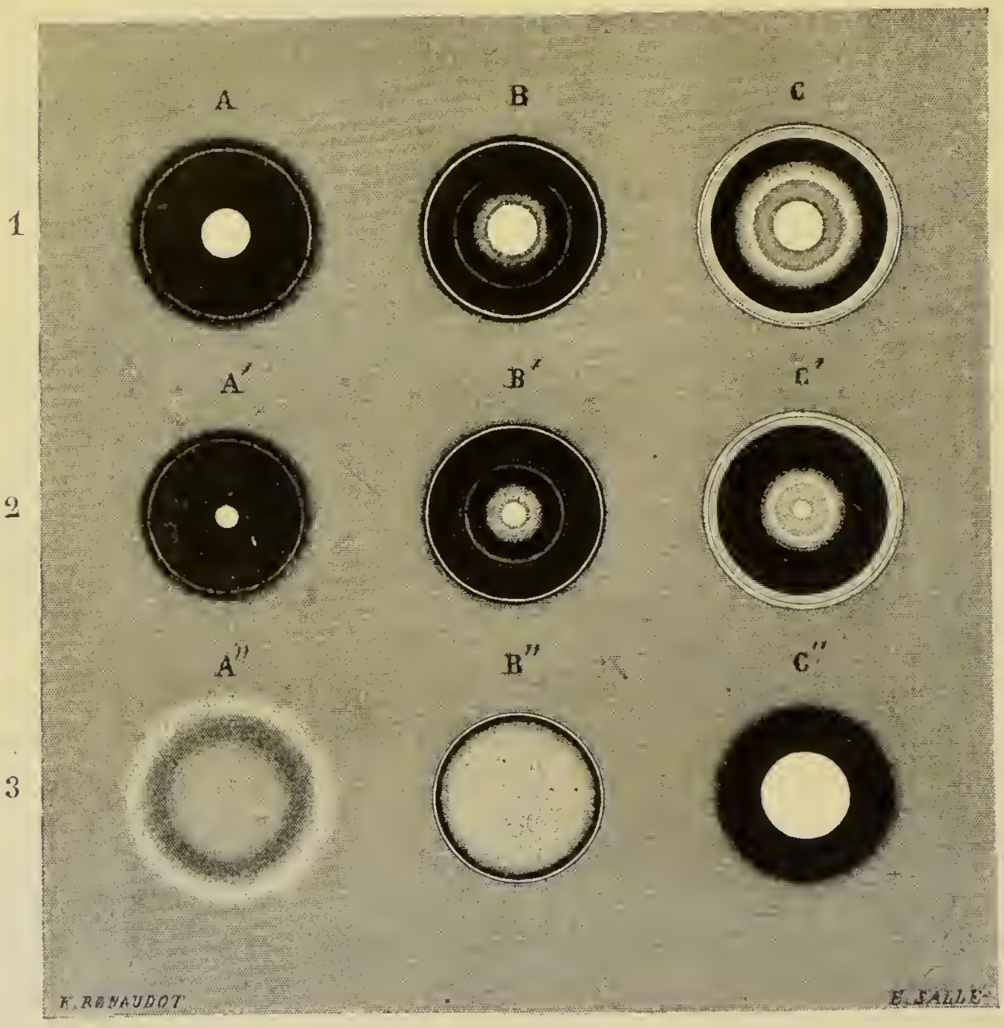


Fig. 5.

1. Bulle d'air dans l'eau. A, l'objectif étant mis au point sur la partie profonde; B, l'objectif mis au point sur sa partie moyenne; C, l'objectif mis au point sur sa partie supérieure.
2. Bulle d'air dans le baume du Canada. Les lettres A', B', C' indiquent des positions semblables de l'objectif par rapport à la bulle.
3. Globule de graisse dans l'eau. A'', l'objectif mis au point sur la partie profonde; B'' l'objectif mis au point sur la partie moyenne; C'', l'objectif mis au point sur la partie supérieure.

clair, plus clair que le reste du champ; il est entouré d'une zone grise et d'un anneau noir assez large, interrompu par un ou plusieurs anneaux plus clairs; autour de l'anneau noir se trouvent encore un ou plusieurs anneaux concentriques plus clairs que le champ. Ces anneaux clairs sont des franges de diffraction. Nous ne nous occuperons pas en ce moment de la théorie qui explique leur production.

En rapprochant l'objectif de la préparation à l'aide de la vis micrométrique, de manière à inspecter la partie inférieure de la bulle (fig. 5, A), le cercle central blanc diminue et devient plus clair; son bord devient plus net; il est entouré d'un anneau noir très large, environné lui-même à sa périphérie d'un ou plusieurs anneaux de diffraction.

Si l'on éloigne au contraire l'objectif pour examiner la bulle dans sa partie supérieure (fig. 5, C), on remarque que le cercle central augmente en étendue; il est entouré d'un plus ou moins grand nombre d'anneaux de teintes grises variées, autour desquels on retrouve un anneau noir plus mince que ceux que l'on voyait dans les deux autres positions de l'objectif; tout à fait aux bords, on remarque des anneaux de diffraction en plus grand nombre.

L'explication de ces phénomènes (abstraction faite des anneaux de diffraction; voy. plus loin) se trouve dans ce qu'on appelle la réflexion totale. — On sait qu'un rayon lumineux *ca* (fig. 6), qui passe obliquement de

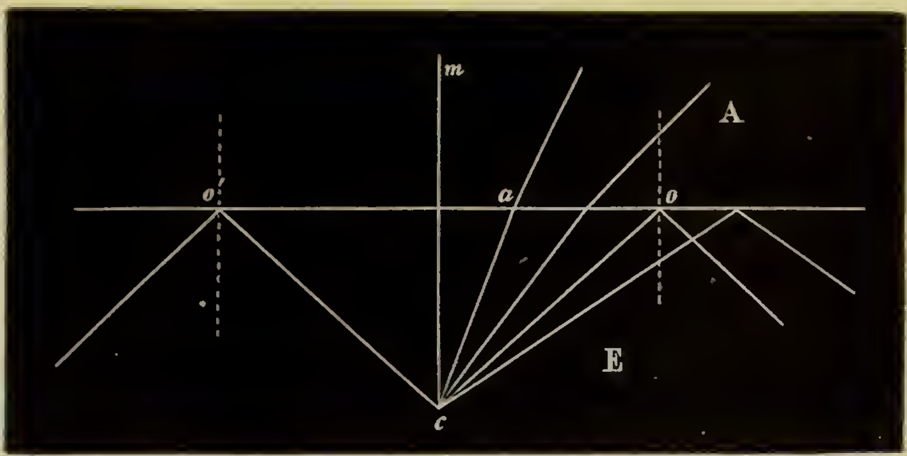


Fig. 6.

l'eau E dans l'air A, se réfracte en s'éloignant de la normale; plus le rayon incident est oblique, plus le rayon réfracté se rapproche de la surface *oo'*, de sorte qu'en considérant des rayons de plus en plus obliques, on arrive à un rayon incident *co* pour lequel le rayon réfracté serait parallèle à la surface du liquide. Ce rayon *co* ne se réfracte plus; il subit ce que l'on nomme la réflexion totale. L'angle *ocm* que fait alors le rayon incident avec la normale est l'angle limite, c'est-à-dire l'angle qui limite les rayons qui pouront sortir de l'eau pour arriver dans l'air. En effet, tous les rayons plus obliques encore seront à plus forte raison réfléchis, et un point lumineux *c*, placé dans l'eau n'éclairera qu'une surface dont la section sera *oo'*; tout le reste sera obscur.

Cela posé, si nous prenons une bulle d'air placée dans l'eau (fig. 7) et recevant par en bas une série de rayons parallèles, chacun de ces rayons est supposé rencontrer la tangente à la surface de la sphère au point où il touche cette surface; le rayon qui passe par le centre fait avec cette tangente un angle de 90°; il n'éprouve pas de déviation; le rayon tombant en *a'* ne fait

plus qu'un angle, par exemple de 70°, avec la tangente; il a par conséquent un angle d'incidence de 20°, et le rayon qui, arrivant en a''', fera avec la normale un angle de 48°35′ (angle limite pour les rayons qui passent de l'eau dans l'air) subira la réflexion totale. A plus forte raison, tous les rayons qui viendront tomber plus loin que a''' sur la surface de la bulle n'arriveront pas à l'œil de l'observateur; les bords de celle-ci paraîtront obscurs, tandis que son centre sera brillant. En examinant cette bulle au microscope, on devra donc voir, lorsque l'objectif sera rapproché de manière à distinguer nettement son fond, un cercle central blanc (fig. 5, A) entouré d'un anneau noir correspondant à la zone obscure dont nous venons de parler. On voit par le tracé (fig. 7) qu'en relevant l'objectif de manière à percevoir distinctement la portion centrale de la bulle, le cercle blanc central augmentera d'étendue, et son bord deviendra diffus, tandis que l'anneau noir s'amincira. C'est en effet ce qui a lieu (fig. 5, B). Enfin, en éloignant l'objectif de manière à voir distinctement le haut de la bulle, on apercevra encore moins nettement la zone obscure. Par contre, il se produira alors une série d'anneaux beaucoup plus nombreux, soit vers le centre, soit vers la périphérie, parce que la partie inférieure de la bulle avec sa zone obscure, agissant sur les rayons lumineux qui la traversent comme un diaphragme, détermine la formation de franges de diffraction.

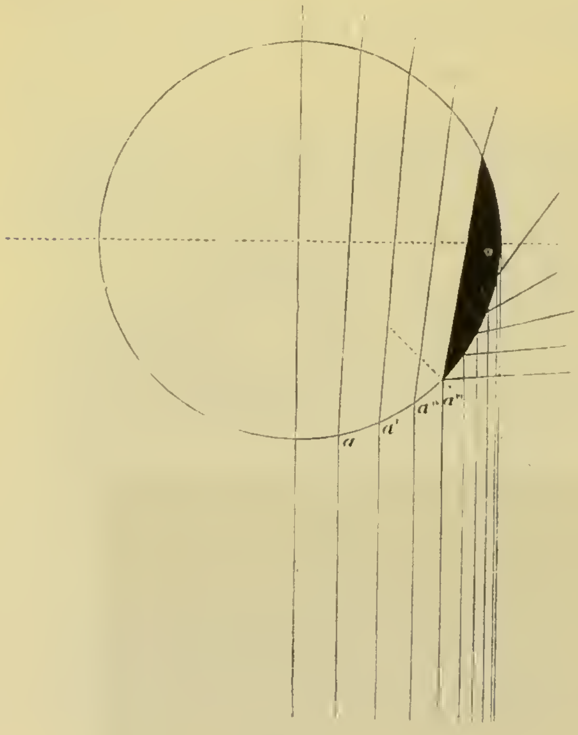


Fig. 7.

Bulle d'air dans le baume. — Dans le baume du Canada, qui est beaucoup plus réfringent que l'eau, l'angle limite, au lieu d'être de 48°35′, a une valeur beaucoup plus petite, c'est-à-dire que des rayons tombant beaucoup moins obliquement sur la surface de séparation subiront déjà la réflexion totale. Sur une bulle d'air, il n'y aura donc que les rayons tombant très près du pôle inférieur de la bulle qui arriveront à l'œil de l'observateur, et la zone marginale noire sera beaucoup plus étendue.

En effet, lorsqu'on examine dans les mêmes conditions que précédemment une bulle d'air dans le baume du Canada, on voit, lorsqu'on rapproche l'objectif de manière à examiner le fond de la bulle, une calotte sphérique noire, A′ (fig. 5, 2), percée au centre d'un petit trou comme taillé à l'emporte-pièce et d'un blanc plus éclatant que le reste du champ. En mettant l'objectif au point pour le centre de la bulle, c'est-à-dire à l'endroit où les

bords de celle-ci paraissent bien nets, on obtient la figure B′; on voit qu'elle est analogue à la figure B correspondante que donnait la bulle d'air dans l'eau, avec cette différence que le cercle central est moins grand. De même, la figure C′ qu'on obtient en considérant la partie supérieure de la bulle ressemble à la figure C et s'explique de la même façon.

Globule de graisse dans l'eau. — L'indice de réfraction de la graisse est plus grand que celui de l'eau. Un globule de graisse examiné dans l'eau nous fournira donc un bon exemple des phénomènes que peuvent présenter les corps très réfringents dans un milieu moins réfringent.

Pour se procurer un bon objet d'observation, il suffit de prendre avec une aiguille une goutte d'huile d'olive ou d'huile d'amandes douces et de la battre dans un peu d'eau. On dépose sur la lame de verre une goutte du mélange, on recouvre de la lamelle, et l'on cherche, en examinant au microscope, un globule de graisse assez petit pour qu'il ne soit pas déformé par la pression de la lamelle. On l'observe dans les conditions que nous avons indiquées plus haut, avec le miroir bien centré et un petit diaphragme.

En mettant l'objectif au point pour la partie inférieure du globule, il apparaît comme un disque gris un peu plus foncé que le champ et séparé du reste du champ par un anneau un peu plus clair (fig. 5, A″).

Si l'on éloigne l'objectif et qu'on le mette au point pour le centre du globule, celui-ci devient un peu plus clair, tout en restant gris, et l'on voit apparaître sur les bords un anneau noir mince, bordé en dedans et en dehors de franges de diffraction (fig. 5, B″).

En continuant d'éloigner l'objectif, cet anneau noir devient de plus en plus large en gagnant sur le cercle central clair, et quand on examine le pôle supérieur du globule, on voit un cercle blanc, plus blanc que le reste du champ, limité nettement par un anneau noir assez large, plus foncé vers le centre que vers la périphérie (fig. 5, C″).

Aspect des corps plus ou moins réfringents que leur milieu. — Sans entrer dans l'explication de ces derniers phénomènes, constatons que les images diverses que présente le globule de graisse sont précisément l'inverse de celles de la bulle d'air.

La bulle d'air a un anneau noir et un centre blanc d'autant plus nets que l'on rapproche davantage l'objectif du pôle inférieur de la bulle. Le globule de graisse a un anneau noir d'autant plus large et un cercle central d'autant plus net que l'on rapproche davantage l'objectif de son pôle supérieur.

Les études qui précèdent, outre qu'elles nous permettront de distinguer dans les préparations les bulles d'air et les globules de graisse, et qu'elles nous empêcheront de les confondre avec des éléments histologiques, nous servent à établir ici ces deux principes généraux :

Les corps plus réfringents que le milieu qui les entoure ont un centre blanc d'autant plus net et plus petit et un anneau noir d'autant plus large qu'après avoir mis l'objectif au point pour leur centre, on l'éloigne progressivement jusqu'à un certain niveau qui correspond à l'image la plus nette de leur partie culminante ;

Les corps moins réfringents que le milieu dans lequel ils sont placés paraissent avec un centre d'autant plus blanc et plus petit et un anneau noir d'autant plus large et plus foncé qu'après avoir mis l'objectif au point pour leur région centrale, on l'abaisse jusqu'à obtenir l'image la plus nette de leur face inférieure[1].

Lumière monochromatique. — Lorsqu'on examine les objets à la lumière monochromatique jaune obtenue, soit par la combustion du sodium, soit par la décomposition de la lumière solaire au moyen d'un prisme, on observe en gros les mêmes phénomènes que nous venons de décrire, mais les franges de diffraction sont plus nettes, plus éloignées les unes des autres et en beaucoup plus grand nombre qu'avec la lumière ordinaire. Les franges internes de la goutte de graisse, entre autres, sont dessinées de telle sorte qu'on la dirait constituée par une série de couches concentriques, comme un grain d'amidon. A la lumière monochromatique bleue, les franges de diffraction sont plus rapprochées les unes des autres, plus fines et un peu moins accusées. Aussi la lumière monochromatique jaune constitue-t-elle un bon moyen de constater si des stries qu'on aperçoit dans un objet lui appartiennent en propre, ou si ce ne sont que des stries de diffraction. Lorsque ces stries appartiennent à l'objet, elles ne sont pas exagérées par la lumière monochromatique[2].

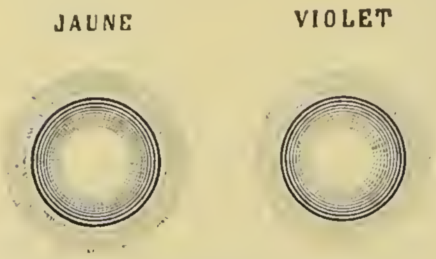


Fig. 8. — Bulles d'air observées dans l'eau à la lumière jaune et à la lumière violette.

1. Ces phénomènes ont déjà été bien observés par Dujardin. — Voici ce qu'il dit : « ... Une bulle d'air et une gouttelette d'huile dans l'eau paraîtront l'une et l'autre bordées d'un cercle noir et pourvues d'un point lumineux au centre, si on les examine séparément et si l'on cherche pour chacune la distance convenable; mais si on les examine ensemble et comparativement, on reconnaîtra bientôt une différence essentielle entre ces deux petites boules. L'une, la bulle d'air, représentant un espace vide et moins réfringent par rapport à l'eau, agira comme une petite lentille biconcave, et n'aura son centre brillant que si l'on rapproche l'objectif du microscope, puisque le petit faisceau lumineux qui la traverse devient divergent et doit avoir son foyer au delà de cette sphère. La petite boule d'huile, au contraire, réfractant la lumière plus fortement que l'eau, agira comme une lentille biconvexe, et montrera son centre plus brillant quand on éloigne l'objectif du microscope. » — *Dujardin*, l'Observateur au microscope. Paris, 1843, p. 55.

2. On peut, au moyen d'une disposition assez simple, arriver à éclairer le microscope avec une lumière monochromatique quelconque. Dans une pièce où pénètre le soleil, on place près de la fenêtre un prisme triangulaire, de telle façon qu'il renvoie horizontalement le spectre lumineux vers le fond de l'appartement. Il suffit alors de mettre le microscope sur un support dont on fait varier la hauteur, pour observer tour à tour un objet dans les diverses lumières colorées. Pour bien faire, il faudrait se servir d'un héliostat; autrement, le soleil se déplaçant constamment, le miroir du microscope n'est pas longtemps éclairé par la même couleur, et il faut le déplacer pour continuer l'observation.

La lumière jaune peut aussi être obtenue d'une autre façon : on trempe dans une solution de soude une fine spirale de platine, que l'on met ensuite dans la flamme d'un bec de Bunsen. Il se produit une belle flamme jaune, dont on peut se servir pour l'éclairage; son inconvénient est d'être un peu tremblotante. Si l'on veut éviter cet inconvénient, il faut employer la lampe à sodium à double bec de M. Laurent. Comme il n'y a pas de synchronisme dans les oscillations des deux becs placés l'un à côté de l'autre, il se produit une

Objets concaves et convexes. — Les objets convexes et plus réfringents que le milieu qui les entoure se comportent tous comme les globules de graisse, c'est-à-dire que, s'ils sont sphériques, leur centre devient brillant quand on éloigne l'objectif, obscur quand on le rapproche; s'ils sont cylindriques, ils présentent, suivant leur axe, une raie brillante quand on éloigne, obscure quand on rapproche l'objectif.

Les objets concaves, au contraire, situés dans un milieu moins réfringent, se comportent comme les bulles d'air, c'est-à-dire qu'ils présentent un centre brillant quand on rapproche l'objectif, obscur au contraire quand on l'éloigne.

Aspect des globules sanguins. — Ainsi les globules sanguins de l'homme, qui ont la forme de disques biconcaves arrondis à leur périphérie (voy. plus loin, art. Sang), présentent, lorsqu'on rapproche l'objectif de manière à bien voir leur face inférieure, un centre blanc entouré d'un anneau légèrement obscur; lorsqu'on éloigne l'objectif de manière à examiner leur face supérieure, leur centre est au contraire d'un gris plus ou moins foncé et entouré d'un anneau plus clair. Ils se comportent donc à peu près comme une bulle d'air dans l'eau. Ce qui fait différer les images qu'ils donnent de celles de la bulle d'air, c'est qu'ils sont convexes sur les bords, et se comportent en ce point comme des corps convexes dans un milieu moins réfringent. — Dujardin a déjà fort bien observé et décrit ces phénomènes en 1845[1].

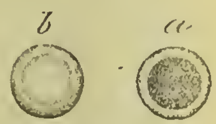


Fig. 9. — Globule sanguin de l'homme : *a*, l'objectif étant mis au point sur la face supérieure du globule : *b*, l'objectif étant mis au point sur la face inférieure du même globule.

Effets produits par le verre recouvrant. — La lamelle de verre qui recouvre une préparation donne lieu à une déviation des rayons lumineux dont les conséquences sont assez importantes, déviation d'autant plus considérable que cette plaque recouvrante est plus épaisse. Cette cause d'erreur a été signalée par Amici.

Soient, par exemple, une lamelle de verre V, 1, fig. 10 (dont nous exagérons beaucoup l'épaisseur pour la facilité de la démonstration), et un point lumineux *a* situé au-dessous et envoyant des rayons à cette lame de verre : le rayon perpendiculaire *a*B passera sans subir aucune déviation, mais les rayons obliques *a*C, *a*D, *a*E, subiront une déviation de plus en plus considérable en passant à travers la lame ; de l'autre côté de cette lame, ils prendront, suivant les lois de la réfraction, les directions C'C'', D'D'', E'E''. Les prolongements de ces différents rayons ne viendront pas se réunir au point *a*, ni en un point unique quelconque; chacun de ces rayons prolongés viendra,

compensation, et la lumière devient à peu près fixe. Il faut disposer le microscope de telle sorte que le miroir reçoive en même temps la lumière des deux becs de gaz.

1. *Dujardin*, loc. cit., p. 91 : « Les corpuscules sanguins montrent nettement les mêmes effets d'ombre et de lumière qu'une lentille biconcave, ou qu'une bulle d'air dans l'eau, ou qu'une gouttelette d'eau dans l'huile, devenant plus sombres quand on éloigne, et plus clairs quand on rapproche l'objectif du porte-objet. »

comme le montre la figure, croiser l'axe optique en un point différent *c,d,e*, et l'image, au lieu d'être rapportée à un seul point et par conséquent d'être nette, paraîtra se faire sur la ligne *ce*, dont elle occuperait toute la longueur, et par conséquent elle sera diffuse, quelle que soit la perfection du microscope.

La déviation des rayons lumineux varie suivant l'épaisseur de la lamelle.

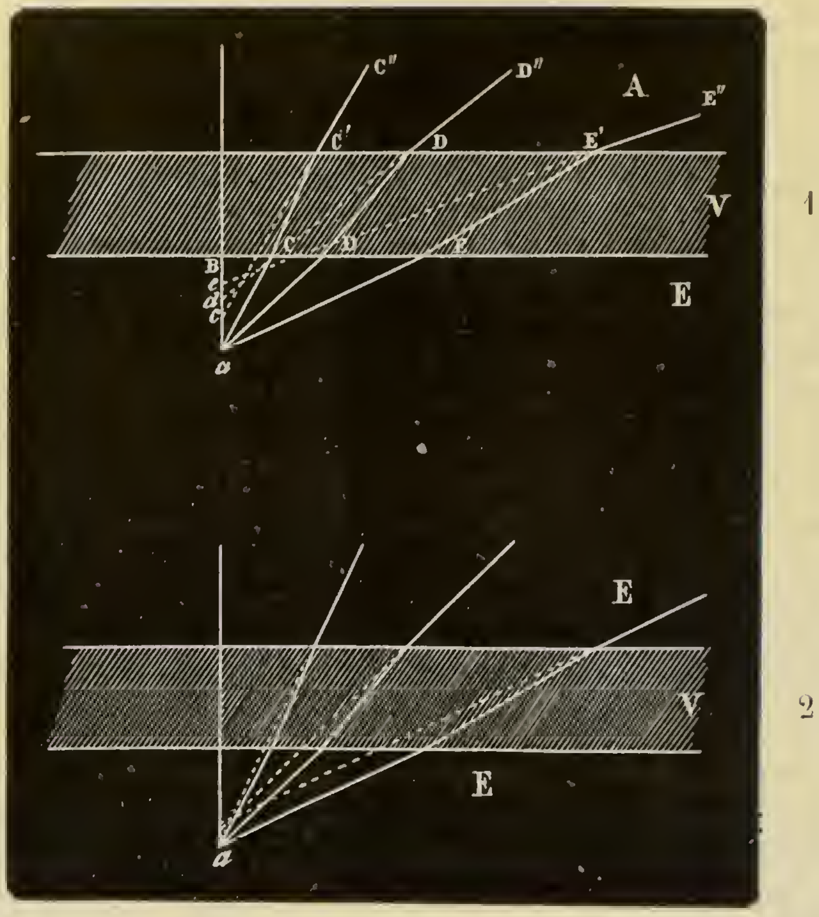


Fig. 10.

1. Aberration produite par la lamelle de verre couvre-objet. — E, eau ; V, verre ; A, air.

2. Correction partielle de l'aberration produite par la lamelle de verre couvre-objet au moyen de l'immersion. — E, eau ; V, verre. — La construction est la même que dans 1.

Déjà Amici a constaté qu'à chaque objectif correspond une épaisseur de la lamelle de verre qui donne les images les plus nettes, et il a conseillé d'employer pour chaque objectif la lamelle de verre de l'épaisseur qui lui convient. Dans la pratique, on ne peut guère s'en tenir à ce conseil.

Objectifs à correction. — Ne pouvant corriger la lamelle, on a imaginé de corriger les objectifs, et l'on a construit des objectifs à correction dans lesquels, à la volonté de l'observateur, les différentes lentilles qui les constituent peuvent être éloignées ou rapprochées l'une de l'autre. A cet effet, l'objectif porte un collier A (fig. 11). Quand on fait tourner ce collier de gauche à droite, on rapproche les lentilles, et, réciproquement, on les éloigne quand on le tourne de droite à gauche. Si la lamelle de verre est mince, il faut rapprocher les lentilles ; si elle est épaisse, il

faut les éloigner. Généralement, les objectifs à correction sont aussi à immersion.

Objectifs à immersion. — L'objectif à immersion est construit de telle façon que l'on doit mettre entre la face inférieure de la lentille et la lame de verre une goutte d'eau; il a l'avantage de rendre l'image plus brillante et plus nette parce qu'il reçoit et conduit à l'œil de l'observateur des rayons marginaux qui n'y arriveraient pas avec un objectif à sec de même puis-

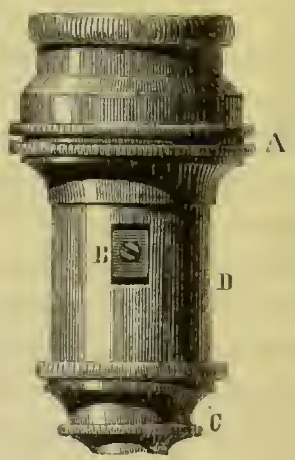


Fig. 11.

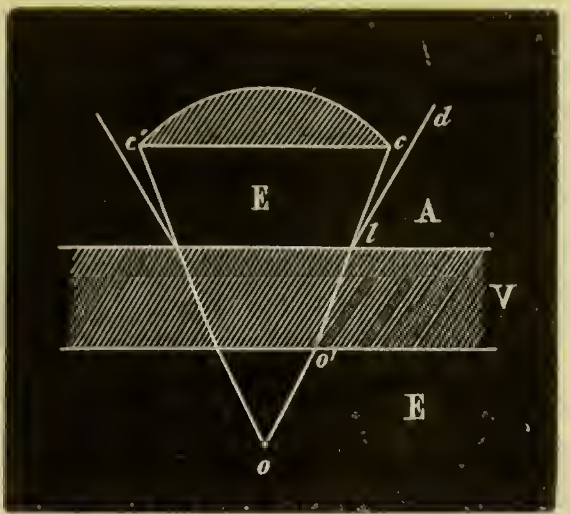


Fig. 12.

sance. La raison en est facile à comprendre. Soient, par exemple, *cc'* (fig. 12) la surface inférieure de l'objectif, V le verre recouvrant; soit *o* un point lumineux placé sous ce verre et soit *oo'* un rayon lumineux envoyé par cet objet : ce rayon, passant au sortir du verre dans l'air, se réfracterait de manière à prendre la direction *ld* et n'arriverait pas à l'objectif. Si, au contraire, entre la lamelle et l'objectif se trouve un milieu beaucoup plus réfringent que l'air, de l'eau par exemple, le rayon lumineux s'écartera beaucoup moins de la normale, et viendra prendre la direction *lc*, de manière à rencontrer l'objectif et à arriver par suite à l'œil de l'observateur. Il parviendra donc par ce moyen à l'œil des rayons lumineux qui autrement n'y seraient pas arrivés.

D'autre part, avec les objectifs ordinaires, un certain nombre de rayons lumineux, arrivant de l'air sur la surface polie de la lentille, sont réfléchis et rejetés au dehors. Lorsqu'il y a une couche d'eau, cette réflexion est beaucoup moins considérable, et il y a moins de rayons lumineux perdus.

De plus, l'immersion à elle seule corrige déjà en partie l'aberration produite par la lamelle de verre, puisque les rayons lumineux subissent par le fait de l'immersion une déviation moins grande (2, fig. 10).

Les objectifs à immersion sont construits d'une façon spéciale, appropriée à l'épaisseur de la couche réfringente que parcourent les rayons lumineux; ils donneraient lieu à une grande aberration si on les employait sans eau.

Une précaution indispensable à prendre avec les objectifs à immersion,

c'est de tenir la face inférieure de la lentille parfaitement propre; si elle était tant soit peu grasse, l'eau n'y adhérerait pas, il y resterait des bulles d'air, et il serait impossible de rien voir nettement. Il est nécessaire aussi d'employer pour l'immersion de l'eau distillée; l'eau ordinaire, en séchant, laisserait sur la lentille des cristaux qui pourraient la rayer quand on l'essuierait.

Si, entre le couvre-objet et l'objectif, on interpose, non de l'eau, mais un liquide ayant la même réfringence que le verre qui sert à construire le couvre-objet ou lamelle et la lentille frontale de l'objectif (c'est, en général, du crown), les avantages de l'immersion seront portés à leur maximum. Toutes les réflexions qui se produisaient à chaque surface de milieux plus réfringents seront supprimées. Des rayons lumineux en plus grand nombre pénétreront dans l'objectif et arriveront à l'œil de l'observateur. On pourra obtenir ainsi un angle d'ouverture plus considérable et, par suite, des images plus nettes et plus lumineuses. De plus, comme à grossissement égal, la distance focale sera plus grande, il sera possible de faire usage d'objectifs très puissants, tout en conservant une distance focale suffisante. Enfin, puisque le milieu a même réfringence que la lamelle, on n'aura plus à s'occuper de l'épaisseur de celle-ci; autrement dit, la correction deviendra inutile.

Ce procédé d'immersion présente, cependant, quelques inconvénients. Les liquides employés le plus souvent sont des huiles essentielles; elles se résinifient, en laissant à la surface des verres une couche transparente, mais irrégulière, qui suffit pour diminuer la netteté des images. Le nettoyage des objectifs et des préparations devient, par suite, plus difficile, et il est indispensable qu'il soit fait complètement.

Les objectifs construits pour être employés avec ces liquides ont été désignés sous le nom d'*objectifs à immersion homogène*. Imaginés tout d'abord par Amici, ils ont été abandonnés, peut-être à cause des inconvénients susdits; mais les recherches bactériologiques, nécessitant l'emploi de grossissements très forts, donnant des images très nettes, les ont remis en faveur. Stephenson, de Londres, puis Abbe et Zeiss, d'Iéna, ont surtout contribué à ce mouvement.

Comme milieu d'immersion, on a essayé un grand nombre de liquides : solutions aqueuses de divers sels, de chlorure de zinc entre autres, glycérine pure ou contenant en solution du chloral, huiles essentielles, etc. On emploie, actuellement, un mélange d'huile de ricin et d'essence d'anis, ou encore de l'huile de bois de cèdre suffisamment épaisse.

Il est préférable de faire usage, pour un objectif déterminé, du liquide pour lequel il a été construit. De plus, comme l'image est plus ou moins nette suivant la longueur du tube, il faudra donner à ce dernier la longueur indiquée par le constructeur.

Abbe et Zeiss ont donné un procédé fort simple pour constater si les liquides d'immersion ont l'indice de réfraction voulu, 1,505 environ : le liquide à examiner est introduit dans un vase de verre à parois parallèles, au milieu duquel on place un petit prisme de crown. On regarde alors, à

travers cet ensemble, une arête rectiligne et verticale quelconque, fil à plomb, règle, montant de fenêtre. Si l'image de cette arête se poursuit en ligne droite sans interruption et sans accidents, c'est que le liquide a le même indice de réfraction que la substance du prisme.

Il est à remarquer qu'au niveau du prisme, la ligne visée paraît généralement irisée. Cela tient à ce que le crown est d'habitude plus dispersif que le milieu examiné, tout en ayant le même indice de réfraction.

Épreuve du microscope. — Pour qu'un microscope soit bon, il faut qu'il réunisse de bonnes conditions mécaniques et de bonnes conditions optiques.

Conditions mécaniques. — Les conditions mécaniques d'un microscope sont faciles à apprécier. Pour la vis micrométrique, on s'assurera, en la faisant tourner, que son mouvement est régulier et n'exige pas d'effort. Il ne faut pas qu'à certains points la vis soit plus serrée et que son jeu exige plus de peine. Si le microscope peut s'incliner, le mouvement de bascule doit se faire facilement, et l'instrument rester dans la position quelconque qu'on lui donne.

Si la platine est tournante, il faut examiner si elle est bien centrée, c'est-à-dire si, dans toutes les positions, son centre reste dans l'axe optique de l'instrument.

Les diaphragmes doivent aussi être bien centrés. Cette condition n'est pas toujours remplie pour les plus petits diaphragmes; en les mettant sous la platine et en les regardant avec un objectif faible, on constate facilement si le cercle lumineux qu'ils donnent est au milieu du champ.

Aberration chromatique. — Quant aux conditions optiques, il faut s'assurer d'abord que l'aberration de sphéricité n'est pas considérable, autrement l'instrument est à rejeter. Pour l'aberration chromatique, nous avons vu qu'on ne peut jamais l'éviter complètement. Les objets ont toujours, ou bien un bord orangé, qui prouve que la dispersion des rayons lumineux n'a pas été corrigée entièrement, ou bien un bord bleuâtre, qui indique un excès de correction. Le plus souvent l'opticien choisit cette dernière condition. A la lumière oblique, quand bien même la correction chromatique du microscope est aussi complète que possible, les objets offrent d'un côté une coloration bleuâtre, de l'autre une coloration orangée.

Aberration de forme. — Il peut encore se produire une aberration de forme qui est due à l'oculaire. Si avec un oculaire le champ du microscope paraît plat, avec un autre oculaire il paraîtra convexe. Ce n'est pas une raison pour que le microscope soit mauvais; cela prouve simplement que l'oculaire dont on s'est servi ne correspondait pas à l'objectif avec lequel on l'a accouplé.

Brièveté du foyer. — Un autre inconvénient de quelques lentilles est la brièveté du foyer. Il faut, dans ce cas, pour mettre au point, que l'objectif touche pour ainsi dire la préparation. Du moment que l'objectif a un foyer trop court pour que l'on puisse observer les objets recouverts avec des lamelles du commerce, il faut le rejeter.

Angle d'ouverture. — Il ne suffit pas qu'un microscope soit exempt des défauts que nous venons d'indiquer; pour qu'il soit bon, il faut encore qu'il réunisse certaines qualités que nous allons énumérer. Tout d'abord il est nécessaire que les objectifs à fort grossissement aient un grand angle d'ouverture. L'angle d'ouverture d'un objectif est l'angle formé par les deux rayons extrêmes qui, partant d'un même point de l'objet examiné, peuvent arriver à l'œil de l'observateur.

Soit un point *o* (fig. 13) examiné successivement avec les objectifs *mn* et *m'n'*. Ce point enverra à l'objectif *mn* un cône de rayons lumineux dont les rayons *om* et *on* limiteraient la coupe longitudinale. Le même point examiné avec l'objectif *m'n'* enverra à cet objectif un cône de rayons beaucoup plus évasé, et dont la coupe serait limitée par les rayons *o'm'*, *o'n'*. L'angle *mon* et l'angle *m'o'n'* sont les angles d'ouverture des objectifs. La seule inspection de la figure montre que l'angle d'ouverture ne peut être considérable que si l'objectif est à court foyer; cependant un objectif peut être à court foyer et n'avoir pas néanmoins un angle d'ouverture considérable, si sa construction ne lui permet pas de conduire à l'œil de l'observateur les rayons marginaux.

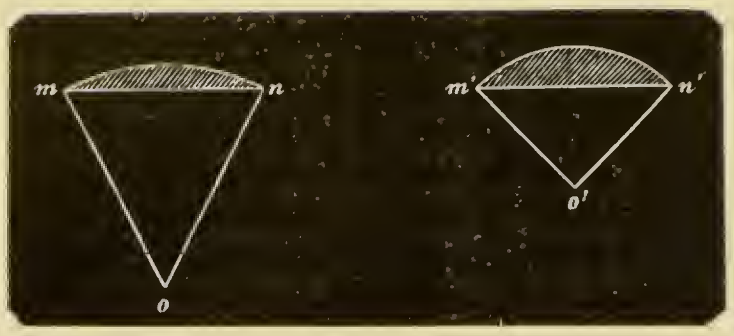


Fig. 13.

L'avantage du grand angle d'ouverture d'un objectif se comprend facilement. Plus cet angle est grand, plus sera considérable la quantité de rayons lumineux qui d'un même point arriveront à l'œil de l'observateur; par conséquent la situation des différents points d'un objet sera d'autant mieux définie.

Ce sont surtout les rayons marginaux (ceux que les objectifs à grand angle d'ouverture seuls peuvent recueillir) qui donnent une bonne définition d'un objet.

On obtient aujourd'hui des objectifs qui ont un angle d'ouverture supérieur à 170°.

Mesure de l'angle d'ouverture. — Il est important de pouvoir mesurer l'angle d'ouverture d'un objectif. On a pour cela un appareil très simple et facile à manier. Il se compose d'un petit support (fig. 14), *ab*, qui peut se mouvoir autour du point *a*, sur un cercle gradué en degrés *lmn*. Au point *c* se trouve une lampe qui envoie à travers un écran *d* un rayon lumineux dans la direction *ca*.

On place le microscope dont on veut étudier l'objectif sur le support *ab*, de manière que son objectif soit exactement situé au point *a;* en regardant à travers le tube dépourvu de son oculaire, on aperçoit nettement l'image

de la lampe. On fait alors tourner lentement le tube suivant *ml*, en regardant toujours à travers, de manière à voir l'image de la lampe, et l'on s'arrête lorsque cette image disparaît. Supposons qu'à ce moment on soit arrivé

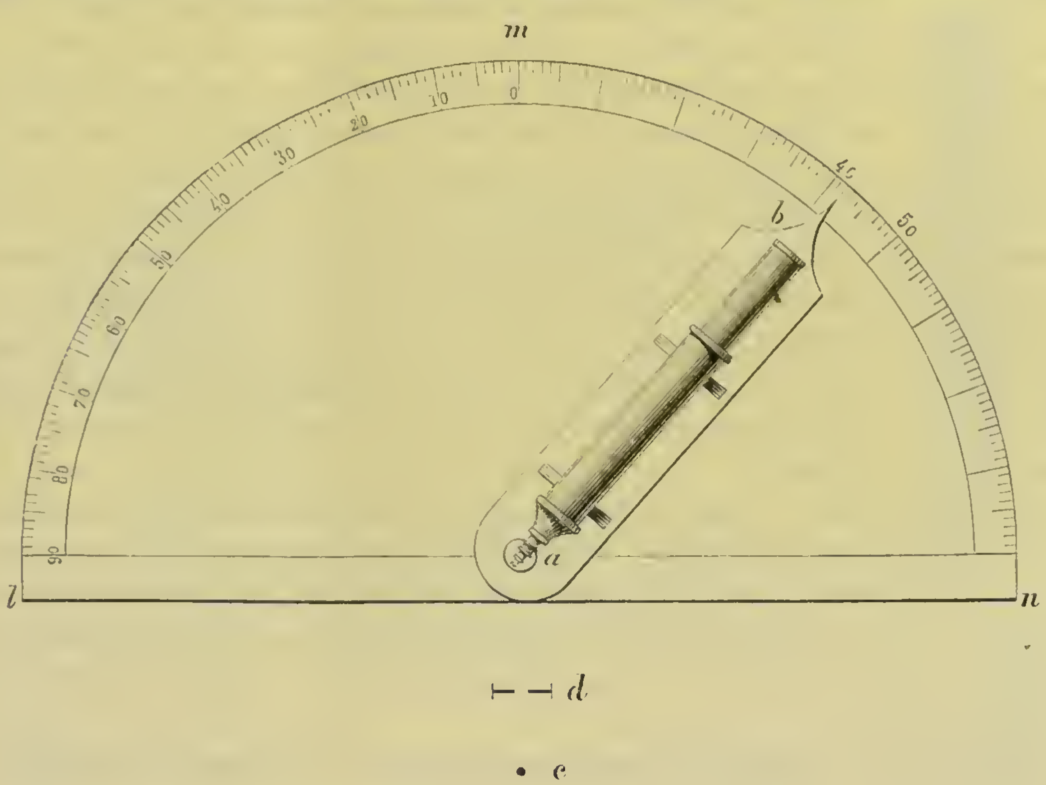


Fig. 14.

à 75° à partir du zéro placé en *m*. On fait tourner de même le support vers *mn*, et l'on constate que l'image de la lampe est visible dans le tube du microscope jusqu'au même degré que de l'autre côté, par exemple jusqu'à 75°. L'angle d'ouverture est donc de 75° + 75° = 150°.

Objectifs définissants et pénétrants. — Dans différents traités du microscope, on distingue les objectifs en définissants et en pénétrants. Cette distinction n'est pas bien claire. La définition serait alors, en effet, relative à la perception nette des formes, du contour des objets ; la pénétration au contraire, à l'étude des détails d'un objet. Cette distinction ne se soutient pas en pratique. Supposons, en effet, une boule qui en contienne plusieurs petites : un objectif, définissant serait celui qui, pour la grosse boule, indiquerait nettement sa forme et ses contours, mais sans faire voir son contenu ; un objectif, au contraire, qui ferait voir les petites boules et qui pour elles serait définissant, serait pénétrant pour la grosse boule. Ces mots ont été introduits à une époque où l'on ne connaissait pas bien les qualités d'un objectif. En réalité, un objectif qui définit bien pénètre bien, et réciproquement ; sa qualité dépend uniquement de la perfection des lentilles et de l'angle d'ouverture, en d'autres termes, de la quantité de rayons lumineux arrivant d'un point à l'œil de l'observateur. Plus un point lui enverra de rayons lumineux, moins on sera exposé à le confondre avec les objets voisins.

La distinction entre les objectifs définissants et pénétrants n'est en somme que celle entre les objectifs à faible et à fort grossissement. Les objectifs à faible grossissement permettent d'avoir une vue d'ensemble des objets. Avec un fort grossissement, au contraire, et un grand angle d'ouverture, il n'est pas possible de voir un élément ayant une notable épaisseur dans toutes ses parties à la fois. On en voit, ou bien la face inférieure, ou le centre, ou la face supérieure, et tout d'abord, en commençant, on ne distingue rien nettement. On serait même porté à croire, lorsque l'on est au début de ses études histologiques, que l'on a affaire à des objectifs imparfaits, puisqu'ils ne peuvent pas montrer un objet dans son ensemble, mais on reconnaît bientôt que ce défaut apparent est la qualité la plus précieuse de l'objectif, puisqu'il permet non seulement d'étudier les contours, mais de connaître la situation relative des différentes parties d'un objet, de le toucher, pour ainsi dire, à l'aide de la vis micrométrique et d'en apprécier l'épaisseur.

Objets d'épreuve. — Pour étudier un objectif, on se sert d'objets d'épreuves que les Anglais ont appelés *test-objects*. Les objets d'épreuves les plus usités sont les diatomées, sortes d'algues unicellulaires à carapace siliceuse. On détruit avec l'eau régale leurs parties organiques, et la carapace siliceuse qui reste présente des stries d'une finesse extrême, variables suivant les espèces.

L'espèce qu'on emploie le plus souvent est le *Pleurosigma angulatum*. A un grossissement de 500 diamètres, à sec, et avec un objectif ayant un angle d'ouverture de 150°, il montre trois systèmes de raies, si l'on emploie la lumière oblique : un système oblique partant de la nervure centrale, un second système oblique en sens inverse, et enfin un système perpendiculaire à cette nervure.

En plaçant le miroir obliquement hors de l'axe et en employant une platine tournante, on fait tomber successivement la lumière sous des incidences variées, et l'on obtient l'un après l'autre, les trois systèmes de raies. Avec la lumière centrée, ces raies sont beaucoup plus difficiles à apercevoir, et c'est là que se reconnaît la puissance d'un objectif à grand angle d'ouverture. Avec un objectif de 160° à 170° d'angle d'ouverture et à immersion, on voit nettement les trois systèmes de raies du *Pleurosigma*[1].

Un constructeur allemand, Nobert, a tracé au diamant, sur des lames de glace, des systèmes de raies parallèles de plus en plus fines et de plus en plus rapprochées. On appelle ces lames *plaques de Nobert*.

Pour reconnaître, à l'aide de ces plaques, le pouvoir d'un objectif, on les examine, comme tout autre objet, soit à la lumière centrée, soit à la lumière oblique, et l'on peut déterminer quel est le dernier système résolu par tel ou tel objectif, c'est-à-dire le dernier dans lequel les lignes peuvent être

1. Presque tous les constructeurs de microscopes, du moins en France, livrent à l'acheteur une préparation de *Pleurosigma angulatum*. Dès lors il m'a semblé inutile d'en reproduire ici un dessin.

distinguées; dès lors les objectifs peuvent être comparés par ce moyen les uns aux autres au point de vue de leur puissance[1].

Pour les recherches histologiques, le meilleur microscope n'est pas toujours celui qui montrera le mieux les raies du *Pleurosigma*. Les diatomées sont en effet des corps plans, offrant seulement de légères stries; en anatomie générale, on a, au contraire, affaire à des objets irréguliers, rugueux, concaves, convexes, changeant de forme, et il faut des objectifs qui montrent bien tous ces détails. Un bon moyen de les choisir, lorsqu'on est habitué à l'observation microscopique, c'est d'avoir un objet histologique que l'on ait étudié auparavant avec des lentilles variées, et dont on se soit convaincu qu'il doit être vu de telle ou telle façon avec un excellent objectif; on regarde alors cet objet avec les divers objectifs que l'on veut essayer, et l'on considère comme les meilleurs ceux qui le montrent le mieux.

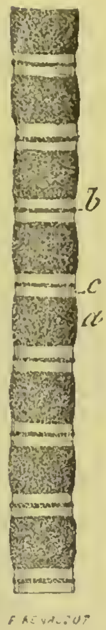


Fig. 15. — Fibrilles isolées des muscles des ailes de l'hydrophile (2000 diam.) : *a*, disque épais; *b*, disque mince.

Je me sers habituellement, comme objet d'épreuves, de fibrilles musculaires isolées des ailes des hydrophiles : il faut qu'avec un grossissement supérieur à 500 diamètres, on y voie les disques sombres alternativement épais et minces qui les caractérisent.

Manière d'apprécier le grossissement du microscope. — *Angle visuel.* — Pour apprécier le grossissement d'un microscope, il faut se rappeler que nous ne connaissons pas par la vue seule la dimension réelle des objets; nous ne connaissons

1. Nous avons sous les yeux une de ces plaques de Nobert : c'est une lame de glace sur laquelle est tracée une série de dix-neuf systèmes de raies. L'ensemble de ces dix-neuf systèmes paraît à l'œil nu comme une ligne unique. L'endroit où se trouve le tracé est recouvert d'une lamelle mince, lutée avec un vernis, de manière que l'on puisse observer avec des lentilles à immersion, sans que l'eau vienne mouiller les raies. Sur une des extrémités de la glace se trouve le tableau suivant que nous reproduisons textuellement :

TEST-OBJECT.

$$\frac{1'''}{1000} \quad — \quad \frac{1'''}{10000}$$

DISTANTIA LINEARUM

1 Div.	0,001000	11 Div.	0,000167
3 —	0,000500	13 —	0,000143
5 —	0,000333	15 —	0,000125
7 —	0,000250	17 —	0,000111
9 —	0,000200	19 —	0,000100

Dans le premier système, la distance d'une raie à l'autre est donc d'un millième de ligne; elle va en diminuant graduellement dans ces différents systèmes jusqu'au dix-neuvième, où la distance entre deux raies voisines n'est plus que d'un dix-millième de ligne. Dans les derniers systèmes, les raies sont si rapprochées, qu'avec les plus forts objectifs on n'arrive pas à les distinguer. Avec un objectif nº 10 à immersion de Hartnack, on distingue nettement les raies jusque dans le huitième système avec la lumière centrée et un petit diaphragme, et jusque dans le dixième avec la lumière oblique.

que l'angle visuel sous lequel ils se présentent. Soient en effet l'objet *mn*, et *bac* l'angle visuel sous lequel nous voyons cet objet; l'objet *m'n'*, placé à une distance plus grande, sera vu sous le même angle visuel, aura par conséquent la même dimension apparente, quoique sa grandeur soit plus considérable. La grandeur apparente d'un objet différera donc suivant le plan (*mn* ou *m'n'*) où l'on arrêtera l'angle visuel.

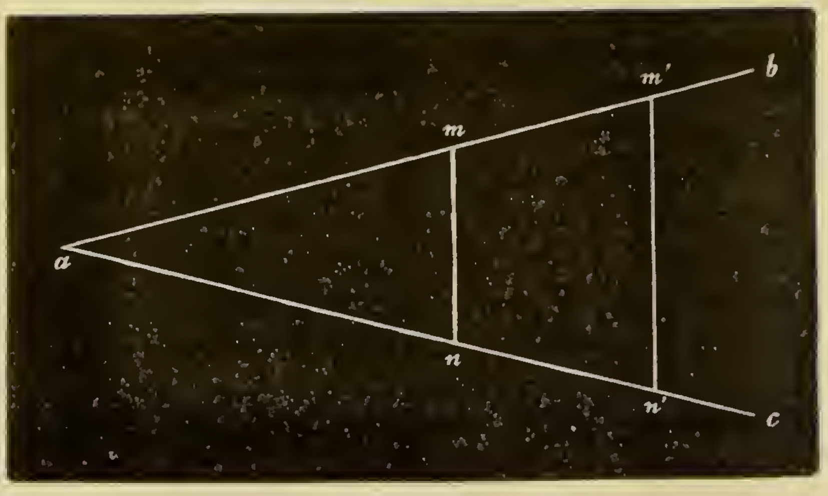


Fig. 16.

Aussi le grossissement d'un système de lentilles sera apprécié d'une façon tout à fait différente suivant le point où l'on arrêtera l'angle visuel pour recueillir l'image que l'on se propose de reproduire par le dessin. Quelques observateurs ont voulu recueillir l'image sur l'oculaire même, elle est alors très petite; d'autres l'ont prise sur la table de travail, elle est beaucoup plus considérable. Aujourd'hui on la prend généralement sur la platine du microscope, c'est-à-dire à 20 ou 25 centimètres de l'œil de l'observateur; c'est pour ce point-là que l'on donne la grandeur apparente ou ce qu'on appelle le grossissement. On ferait mieux encore d'adopter définitivement 25 centimètres, pour que l'on pût comparer entre eux tous les grossissements.

Cela posé, pour apprécier le grossissement d'un système de lentilles quand il s'agit d'un objectif faible, on place sur la platine une petite règle d'ivoire divisée par exemple en demi-millimètres; cette règle est éclairée par la lumière directe. Lorsque la mise au point est produite, on aperçoit nettement les divisions de la règle. Supposons qu'il y en ait six dans le champ du microscope; on en conclura que le diamètre du champ est de 3 millimètres. Puis on place à côté de la platine, sur une tablette élevée à la même hauteur, une surface blanche, une feuille de papier, par exemple. On regarde dans le microscope avec l'œil gauche, et directement sur la surface blanche avec l'œil droit; il est facile alors de tracer avec un crayon sur l'écran l'image grossie de la règle. Supposons que sur le papier cette image des six divisions de la règle occupe 9 centimètres ou 90 millimètres; nous aurions ainsi un grossissement de $\frac{90}{3}$ ou de 30 diamètres.

Micromètre-objet. — Pour des systèmes plus forts, par exemple ceux

dont le grossissement dépasse 100 diamètres, l'observation des divisions de la règle n'est plus possible. On prend alors un micromètre-objet, c'est-à-dire une lame de glace sur laquelle ont été tracées, avec une machine à diviser, des raies parallèles, à un centième de millimètre de distance. En fait, le micromètre-objet est une règle divisée. Aussi, pour s'en servir, faut-il procéder comme il vient d'être dit à propos de la règle; c'est-à-dire qu'on superpose l'image d'un certain nombre de ses divisions grossies sur une feuille de papier. Cette superposition exige un peu d'habitude. Supposons que cinq divisions du micromètre correspondent sur le papier à un centimètre, le grossissement sera de $\frac{1000}{5}$ ou de 200 diamètres.

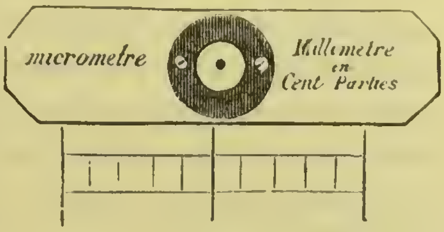


Fig. 17. — Micromètre-objet.

Dimension des objets. — *Mensuration des objets ou micrométrie.* — Pour connaître la dimension des objets que l'on voit au microscope, le procédé le plus simple serait de les placer sur le micromètre-objet, et d'observer directement combien ils occupent de divisions de ce micromètre. Ainsi, en plaçant un objet sur la lame de glace divisée en centièmes de millimètre, si cet objet occupe exactement l'espace compris entre deux des divisions, c'est qu'il a un centième de millimètre de diamètre. Ce procédé n'est pas applicable, parce qu'on ne manie point les objets microscopiques comme on veut; il n'est pas possible d'amener l'objet sur la division du micromètre, ni de l'y placer dans le sens qu'on voudrait. Pour obvier à ces difficultés, on se sert de deux micromètres combinés : le micromètre-objet et le micromètre oculaire.

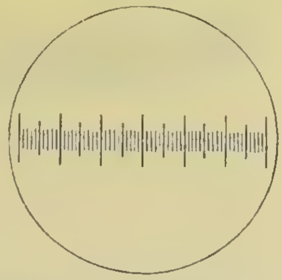


Fig. 18.
Micromètre oculaire.

Micromètre oculaire. — Le micromètre oculaire est formé d'une lame de glace, sur laquelle sont tracées des divisions équidistantes d'une grandeur quelconque et qui est placée dans l'oculaire entre la lentille oculaire proprement dite et la lentille de champ. Pour que les divisions de ce micromètre soient aperçues nettement, il est nécessaire qu'il soit exactement au point de la lentille oculaire, et comme ce point varie suivant les observateurs, il faut pouvoir faire varier la position relative de la lentille et de la lame de glace. Dans les oculaires qui contiennent ce micromètre, la lentille supérieure est montée sur une douille qui peut en effet se visser ou se dévisser de manière à la rapprocher ou à l'éloigner de la lame de glace jusqu'à ce qu'on en aperçoive bien nettement les divisions. On la fixe alors au moyen d'un collier dans cette position.

Le micromètre oculaire étant ainsi disposé, on observe sur la platine du microscope l'objet dont on veut déterminer les dimensions. La division du micromètre, amplifiée seulement par la lentille oculaire, se trouve reportée pour l'observateur sur l'objet à examiner, et cet objet correspond alors à un

certain nombre de divisions de ce micromètre. Supposons par exemple qu'il corresponde à une division. On remplace alors la préparation par le micromètre-objet, et les divisions du micromètre oculaire viennent se superposer à celles du micromètre-objet. On voit à combien de divisions du micromètre oculaire correspond une division du micromètre-objet. Supposons qu'une division du micromètre-objet (divisé, par exemple, en centièmes de millimètre) corresponde à deux divisions du micromètre oculaire, nous en concluons que l'objet que nous avons vu avait un demi-centième de millimètre de diamètre.

ACCESSOIRES DU MICROSCOPE

Il nous reste à parler de certains accessoires du microscope : de la chambre claire pour dessiner avec le microscope, du microscope binoculaire, des appareils à polarisation; enfin de quelques appareils destinés à placer les objets à observer dans des conditions particulières, comme la platine chauffante, la chambre humide, la chambre à gaz, etc.

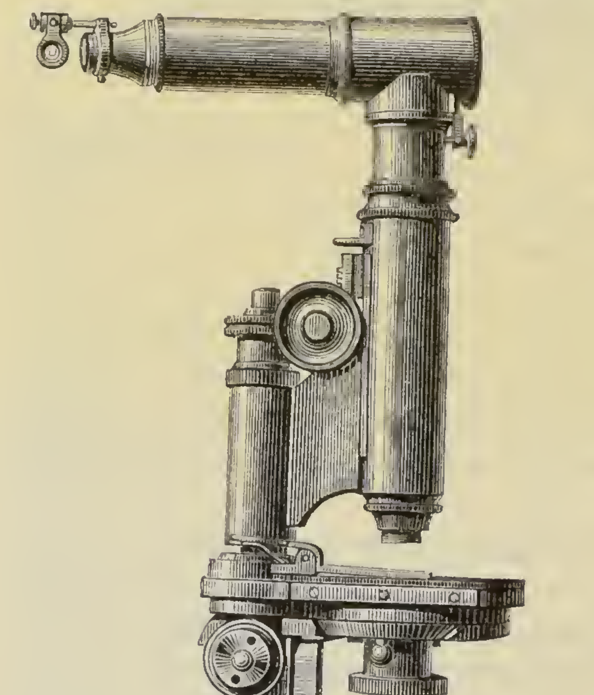


Fig. 19. — Chambre claire d'Oberhauser adaptée au microscope.

Chambre claire. — La chambre claire que l'on emploie avec le microscope est fondée sur un principe de physique bien connu : la réflexion totale de la lumière par un prisme rectangulaire. Il suffirait à la rigueur de placer un prisme quadrangulaire (prisme de Wollaston) au-dessus de l'oculaire pour pouvoir recueillir l'image sur un écran. L'inconvénient, c'est que cette image serait reportée ainsi sur un plan vertical, et ne serait pas commode à recueillir.

On a construit des chambres claires de toute espèce; la meilleure est encore l'ancienne chambre claire de Chevalier et Oberhauser. Elle offre sur les autres plusieurs avantages : d'abord, elle ne déforme pas l'image; en second lieu, cette image se produit sur

un plan horizontal et à une certaine distance du pied de l'instrument, de telle sorte qu'on n'est pas gêné pour faire le dessin.

Cette chambre claire se compose d'un tube coudé à angle droit, dont une des branches est disposée verticalement et peut s'adapter sur le microscope à la place de l'oculaire. L'autre branche est horizontale et a environ 15 centimètres de longueur. Au coude même de l'instrument, exactement au-dessus de l'axe optique, se trouve un premier prisme à réflexion totale qui envoie les rayons dans une direction horizontale, à travers le tube muni d'un oculaire, sur un second prisme à réflexion totale placé à l'autre extrémité; les rayons lumineux sont ramenés dans la direction verticale et de bas en haut, de manière à arriver à l'œil de l'observateur, qui les reporte sur un plan horizontal situé à une hauteur variable et à une distance suffisante du microscope pour permettre de dessiner facilement l'image qu'on y voit.

La chambre claire de Milne-Edwards et Doyère, employée comme on le fait d'habitude, a l'inconvénient de donner une image qui n'est pas exacte. Par exemple, si on examine un carré placé sur la platine du microscope et si on le dessine en se servant de cette chambre claire, on obtient un trapèze

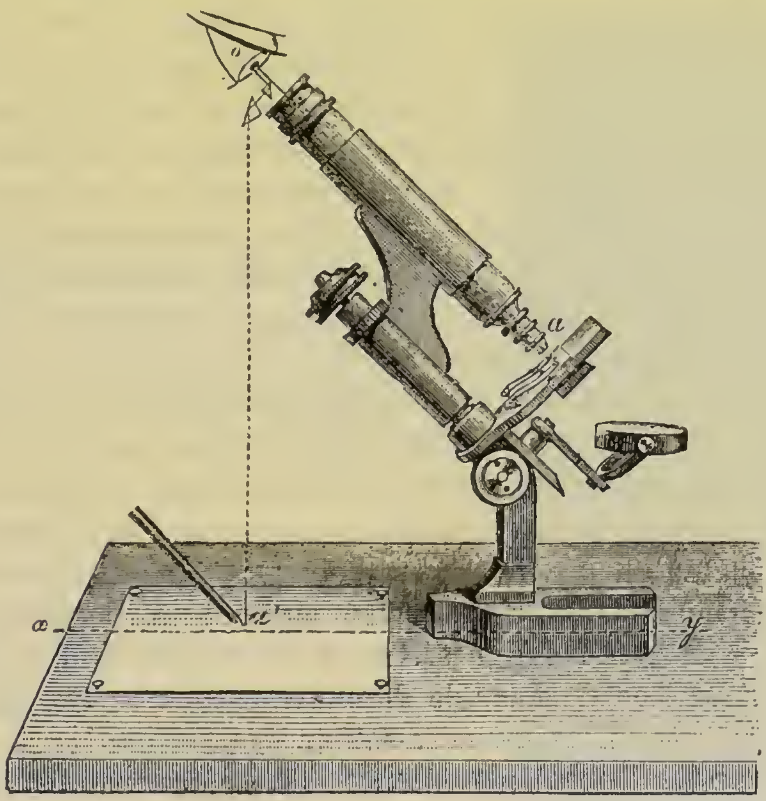


Fig. 20. — Disposition du microscope pour dessiner avec la chambre claire de Malassez.

dont la petite base se trouve du côté du microscope. C'est la raison pour laquelle nous n'avons pas parlé de cette chambre claire dans la première édition de cet ouvrage. Depuis cette époque, M. Malassez y a établi des modifications qui font disparaître ce défaut; et, comme ainsi modifiée, elle est plus pratique et même d'un emploi plus commode que la chambre claire d'Oberhauser, nous devons en parler maintenant

Cette chambre claire se compose, comme celle de Doyère, de deux prismes dont l'un, le prisme oculaire, est fixe, tandis que le second, le plus grand, est mobile autour d'un axe horizontal. Cette disposition permet d'employer l'appareil dans deux positions différentes du microscope. Si l'on veut dessiner des objets mobiles dans la préparation qui les contient, on fixe cette dernière sur la platine du microscope sans l'incliner; on place la chambre claire et le second prisme dans une position telle que l'image de l'objet se trouve projetée à la droite du pied du microscope; mais alors, pour avoir un dessin exact, il est nécessaire de placer le papier sur un plan incliné faisant avec le plan horizontal un angle égal à celui de la déviation de la chambre claire.

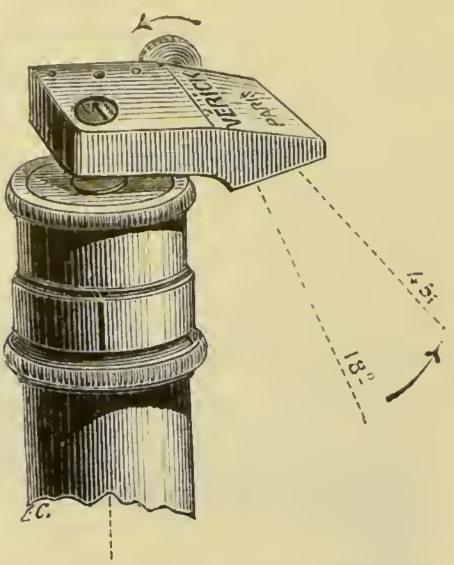


Fig. 21 — Chambre claire à angle variable de Malassez.

Si, au contraire, on se propose de dessiner un objet qui ne risque pas de se déplacer dans la préparation, on incline le microscope pour lui faire faire avec la verticale un angle de 45° (voy. fig. 20); on dispose la chambre claire de manière que l'image se projette derrière le pied du microscope, et l'on fait tourner le prisme de telle sorte qu'il produise une déviation de 45°. Il suffit alors de placer le papier sur la table derrière le pied du microscope pour obtenir un dessin parfaitement exact. Cette position a de plus l'avantage de rendre moins fatigants l'examen de la préparation et l'exécution du dessin.

Il faut que les prismes soient d'excellente qualité pour ne pas altérer l'image. Il est vrai que, dans cette double réflexion, un certain nombre de rayons lumineux sont nécessairement absorbés, et que tous ceux qui passent à travers le microscope n'arriveront pas à l'œil de l'observateur. Mais ce n'est pas toujours un inconvénient : il ne faut pas, en effet, que l'image soit trop brillante sur l'écran; autrement on ne distingue plus la pointe du crayon qui doit tracer les lignes. On est même obligé quelquefois, pour bien voir ce que l'on dessine, de diminuer la lumière du champ du microscope. Pour cela, on remplace le miroir concave par le miroir plan, ou bien même on cherche, pour éclairer le miroir, un point du ciel qui ne soit pas trop brillant.

Il faut beaucoup d'habitude pour finir un dessin à la chambre claire; mais ce procédé est excellent pour tracer les contours, pour rapporter exactement la situation relative des objets; il épargne beaucoup de temps au dessinateur.

La grandeur de l'image que donne la chambre claire dépend, toutes choses égales d'ailleurs, de la hauteur à laquelle on place l'écran destiné à la recevoir. S'il est placé sur la table de travail, l'image sera plus grande

que si on le met au niveau de la platine du microscope. Du reste, même si l'écran se trouve à la hauteur de la platine, l'image est plus grande que celle qu'on verrait en regardant avec l'oculaire. En effet, si l'on emploie la chambre claire d'Oberhauser, les rayons lumineux partant de l'objet ont parcouru, outre la longueur du tube du microscope, toute la longueur du tube horizontal de la chambre claire, dans lequel ils poursuivent leur marche comme s'il était la continuation du premier, et ils forment par suite une image plus grande.

Il ne faut pas qu'une chambre claire redresse l'image; il importe au contraire qu'elle la reproduise telle qu'on la voit en regardant par l'oculaire. C'est en effet le plus souvent en observant sans chambre claire que l'on termine un dessin commencé à son aide; on voit alors les objets renversés, et si l'on avait commencé son esquisse avec une image redressée par la chambre claire, il serait bien difficile de terminer le dessin.

La chambre claire n'est pas indispensable pour le dessin histologique; on peut même, sans se servir de cet instrument, arriver à faire des dessins très exacts; seulement il faut alors être un dessinateur exercé, ou bien y mettre beaucoup de temps.

Lorsqu'un dessin a été exécuté, il est important d'en déterminer le grossissement. Pour y arriver, il suffit de mesurer un de ses diamètres avec une règle divisée en centimètres. Supposons que ce diamètre ait, par exemple, 6 centimètres. On détermine alors par le procédé que nous avons indiqué plus haut, en combinant l'emploi du micromètre-objet et celui du micromètre oculaire, le diamètre correspondant de la préparation. Supposons que ce diamètre soit de $0^{mm},2$, le grossissement du dessin sera de $\frac{60}{0,2} = \frac{600}{2} = \frac{300}{1}$.

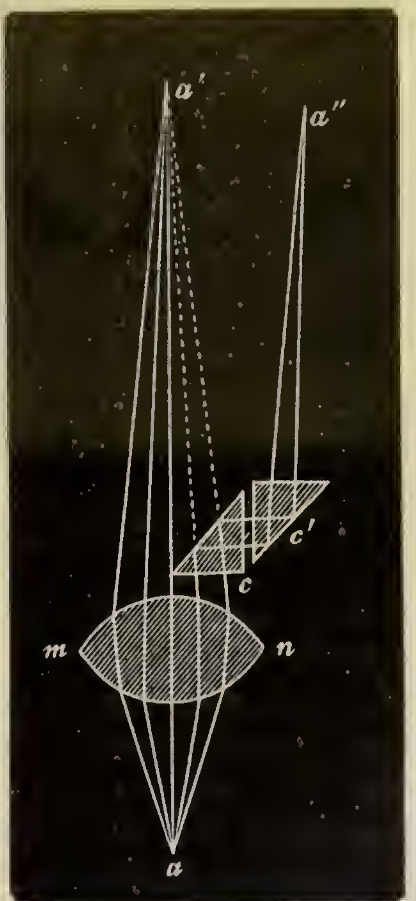


Fig. 22. — Marche des rayons lumineux dans le microscope binoculaire.

Microscope binoculaire ou stéréoscopique. — Dans le but d'avoir, avec le microscope, l'avantage de la vision binoculaire, c'est-à-dire d'apercevoir le relief des objets, on a construit des microscopes binoculaires dans lesquels une partie des rayons lumineux est déviée par un prisme dans un second tube. Soit, par exemple, un point lumineux *a* (fig. 22), et soit une lentille *mn* qui représente l'objectif. Nous savons que ce point *a* envoie au microscope un faisceau lumineux dont la base est mesurée par le diamètre de la lentille. Pour avoir deux images de ce point, il suffit de couper le faisceau en deux parties, et c'est ce qu'on fait en introduisant dans le faisceau émer-

geant de la lentille un couple de prismes rectangulaires *c* et *c'* qui prennent une partie des rayons lumineux et leur font éprouver une déviation latérale de manière à les amener en *a'*. On reçoit ces rayons déviés dans un second tube qui fait avec le premier un angle tel que les deux oculaires aient entre eux la même distance que les deux yeux de l'observateur.

Oculaire binoculaire. — MM. Hartnack et Prazmowski ont construit un oculaire binoculaire par lequel on remplace l'oculaire ordinaire lorsque l'on veut observer avec les deux yeux. Cet instrument a l'avantage de s'adapter à n'importe quel microscope. Le principe en est très simple. Les rayons lumineux sont réfléchis à angle droit par des prismes rectangulaires *a* et *b* (fig. 25); renvoyés sur les prismes *c*, *d*, ils s'y réfléchissent une seconde fois, reprennent la direction verticale, et arrivent en *e* et *f* aux yeux de l'observateur. Tous les observateurs n'ont pas les deux yeux également écartés; aussi cet oculaire est-il muni d'un appareil à crémaillère qui permet de faire varier la distance *ef*. Pour s'en servir, l'observateur doit d'abord régler la distance des deux oculaires de manière qu'elle corresponde à celle de ses yeux. A cet effet, tenant l'oculaire à la main, il regarde directement à travers une surface lumineuse, et il aperçoit deux cercles; il tourne la vis dans un sens ou dans l'autre jusqu'à ce que les deux cercles se confondent : il a alors la bonne distance des deux oculaires.

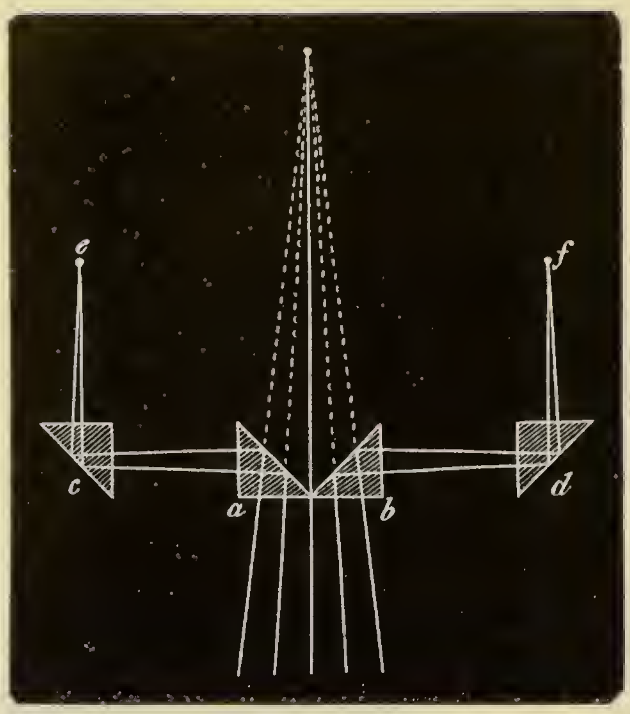


Fig. 25. — Marche des rayons lumineux dans l'oculaire binoculaire de Hartnack et Prazmowski.

Ces microscopes, quelle que soit leur construction, donnent bien la sensation du relief; ils sont, en effet, stéréoscopiques. Ce qui nous donne la notion du relief, c'est que nos deux yeux ne perçoivent pas exactement la même image d'un objet; c'est cette condition qu'on a utilisée pour le stéréoscope, dans lequel deux images différentes d'un objet sont placées chacune devant un des yeux de manière à produire une impression unique. Dans le microscope binoculaire les deux images sont différentes, comme on peut s'en assurer en les dessinant l'une et l'autre, successivement, au moyen de la chambre claire. C'est là une conclusion qui n'est pas d'accord avec celle que j'avais formulée dans la première édition de cet ouvrage et que l'étude des faits m'a conduit à abandonner.

Ces instruments ont l'inconvénient de diminuer la clarté de l'image, et il n'est pas possible de s'en servir avec des objectifs forts. Une autre manière d'avoir avec le microscope une notion du relief des objets et de leur superposition, c'est d'employer le microscope ordinaire avec des objectifs à grand angle d'ouverture. Nous avons vu plus haut (p. 22) que ces objectifs, ne faisant voir que des portions extrêmement limitées des objets, on prenait une connaissance complète de ceux-ci en faisant varier le point de la vue distincte à l'aide de la vis micrométrique. Dès lors, la situation respective de deux points d'un même objet et de deux objets différents sera déterminée par le sens dans lequel on aura été conduit à tourner la vis micrométrique pour les voir successivement. En deux mots, le microscope binoculaire ou stéréoscopique, qui est un bon instrument de démonstration, ne peut pas être employé dans les recherches histologiques.

Appareils de polarisation. — Quand on met un premier prisme de Nicol au-dessous de la platine d'un microscope, et un second prisme au-dessus de l'oculaire, on constate que, pour certaines positions du prisme supérieur, la lumière passe à travers tous ces milieux : le premier prisme, l'objectif, l'oculaire, le second prisme, et vient atteindre l'œil. Si alors on fait tourner le prisme supérieur, il y a des positions où il éteint la lumière : c'est lorsque le plan de polarisation du second nicol est perpendiculaire au plan de polarisation du premier. Certains objets histologiques transparents, placés sur la platine du microscope, dans n'importe quelle orientation, sont obscurs quand les deux nicols sont croisés, c'est-à-dire lorsque la lumière est complètement éteinte dans le champ du microscope; d'autres, au contraire, orientés de certaines façons que l'on doit déterminer, rétablissent la lumière et paraissent éclairés sur le champ obscur. On dit alors que ces objets jouissent de la double réfraction.

La question intéressante pour les histologistes dans ces phénomènes, sur lesquels nous reviendrons, est la suivante. Lorsqu'à la lumière polarisée, on voit aux objets qu'on examine sur champ obscur des parties noires et d'autres parties qui restent brillantes, faut-il en conclure que ces objets sont composés de deux substances absolument différentes, l'une à réfraction simple, l'autre à réfraction double? C'est ce que Brücke[1] a admis, et à sa suite tous les histologistes allemands.

Il y a longtemps que les expériences de Fresnel ont démontré qu'une substance monoréfringente devient biréfringente par la compression. Ainsi, lorsqu'on infléchit une lame de verre, elle devient biréfringente sur les bords, tout en restant monoréfringente au centre; elle montre à la lumière polarisée une raie obscure entourée de deux bandes claires. On devrait donc en conclure, si l'on suivait l'opinion de Brücke, qu'elle est composée de deux substances, l'une monoréfringente au centre, l'autre biréfringente sur les bords.

Il y a tout un ensemble de faits histologiques qui prouve de la manière

1. *Brücke*, Muskelfasern im polarisirten Lichte, *in* Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben, 1871, page 170.

la plus évidente que la double réfraction et la réfraction simple peuvent exister dans la même substance, suivant des conditions particulières dans lesquelles elle se trouve placée. Parmi ces faits, nous en citerons deux qui le démontrent d'une façon frappante.

Un poil obtenu par arrachement (les poils du vestibule des fosses nasales ou ceux du conduit auriculaire conviennent pour cette expérience) est placé sur la platine du microscope, les deux nicols étant croisés et le champ étant par conséquent obscur. Ce poil paraît généralement brillant. En faisant alors tourner la préparation autour de l'axe optique du microscope, on remarque qu'à un moment donné le poil devient obscur; en continuant la rotation, le poil redevient brillant, et en poursuivant toujours, on trouve une seconde position, perpendiculaire à la première, pour laquelle le poil est de nouveau obscur comme le reste du champ. Le poil est donc brillant dans toutes les positions, excepté dans deux qui sont perpendiculaires l'une à l'autre; ces positions sont parallèles aux plans de polarisation des deux nicols. Le bulbe pileux fait seul exception : dans aucune des positions que l'on fait prendre au poil, il ne rétablit la lumière sur champ obscur; il reste toujours noir. Entre le bulbe et le corps du poil, au collet du bulbe, se trouve une portion intermédiaire qui ne rétablit pas la lumière aussi complètement que le corps même du poil, et qui devient grise lorsque le poil devient brillant. Plus on examine une portion du poil voisine de la pointe, plus on voit s'accentuer les différences d'aspect du poil suivant sa position. Si maintenant on considère que le poil est formé, dans toute sa masse et dans toute sa longueur, des mêmes éléments, c'est-à-dire de cellules soudées les unes aux autres, on sera bien forcé de convenir que l'accentuation de la double réfraction, à mesure qu'on examine un point plus rapproché de son extrémité, tient, non pas à l'existence d'éléments de nature différente, mais à la disposition différente de ces éléments, au rapprochement, au tassement, pour ainsi dire, que subissent peu à peu les cellules dans l'évolution du poil.

L'autre exemple est emprunté, non pas à l'évolution d'un organe, mais aux modifications qu'éprouve un même tissu pendant l'évolution de l'être tout entier. Le cartilage fœtal et le cartilage embryonnaire, examinés à la lumière polarisée, ne rétablissent pas la lumière sur fond noir; ils sont dits monoréfringents. Le cartilage adulte, au contraire, rétablit la lumière sur fond noir; il est devenu biréfringent. C'est la substance cartilagineuse seule qui, dans ce cas, possède la double réfraction; les cellules sont toujours monoréfringentes. C'est donc la même substance, possédant la même constitution chimique, les mêmes propriétés générales, qui subit par l'effet de l'âge une condensation moléculaire déterminant la biréfringence. Cette manière de voir est tellement exacte que si, sous l'influence d'un processus morbide, la substance cartilagineuse subit le plus léger degré de ramollissement, elle redevient monoréfringente. Il suffit de ces exemples pour montrer que ces propriétés de monoréfringence et de biréfringence n'ont pas une grande importance au point de vue histologique et ne sauraient

servir de base à des théories sur la nature des substances qui présentent ces phénomènes. Aussi ne nous y arrêterons-nous pas davantage ici, et ne parlerons-nous pas des phénomènes de coloration que présentent différents objets, soit à la lumière polarisée simple, soit lorsqu'on place au-dessous de la préparation une lamelle de gypse[1].

Platine chauffante. — L'idée d'étudier les tissus et les éléments anatomiques à leur température normale appartient à Max Schultze[2]. La platine chauffante de cet auteur est toute de laiton; elle est munie de deux prolongements sous chacun desquels on met une petite lampe à alcool. La cha-

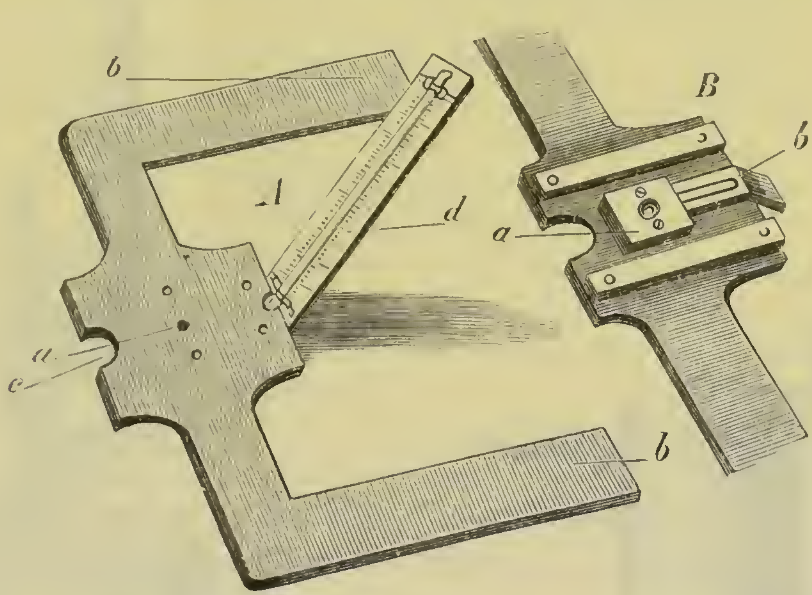


Fig. 24. — Platine chauffante de Schultze : A, vue en dessus; *a*. trou de la platine pour laisser passer la lumière; *b*. prolongements qu'on chauffe; *d*, thermomètre. — B, vue en dessous.

leur se transmet par propagation à toute la platine; un thermomètre dont elle est munie permet d'apprécier approximativement sa température. Ce procédé est très imparfait, mais il a suffi pour prouver que la chaleur peut en effet conserver leurs propriétés physiologiques aux éléments soumis à l'examen.

Stricker a entrepris de chauffer directement l'objet, en plaçant dans le porte-objet un fil de platine fin et enroulé, dont il met les extrémités en contact avec les pôles d'une pile. Le fil s'échauffe rapidement et détermine dans la préparation une élévation de température qui est appréciée à l'aide d'un thermomètre placé dans le porte-objet[3].

L'appareil dont nous nous servons depuis 1865 nous paraît réunir toutes les conditions nécessaires. Il consiste en une caisse de laiton rectangulaire, A, qui porte, à sa partie moyenne, une fente horizontale, *f*, pour permettre d'y glisser la préparation. Au centre elle est percée, de haut en bas,

1. Voyez, pour d'autres détails et pour la discussion : *Rouget*, Des Phénomènes de polarisation qui s'observent dans quelques tissus des végétaux et des animaux, et en particulier dans le tissu musculaire (*Journal de physiologie* de Brown-Séquard, 1862, p. 247).

2. *M. Schultze*, Archiv. für microscop. Anatomie, 1865, p. 1.

3. *Stricker*, Handbuch der Lehre von den Geweben, Leipzig, 1871, p. XIII.

d'un trou qui correspond au trou de la platine ordinaire, et qui laisse passer la lumière; ce trou est assez large pour permettre à l'objectif d'arriver jusque sur la préparation. Elle porte en arrière une tubulure *t* pour y loger un thermomètre et, en avant, deux autres tubulures sur lesquelles sont adaptés des tubes de caoutchouc, *a'* et *b'*, qui se continuent avec les tubes *a*, *b*, faisant ainsi communiquer la platine avec une petite marmite close de laiton. L'appareil tout entier est rempli d'eau qu'on peut élever à la température voulue en mettant sous la marmite une lampe à alcool. Comme

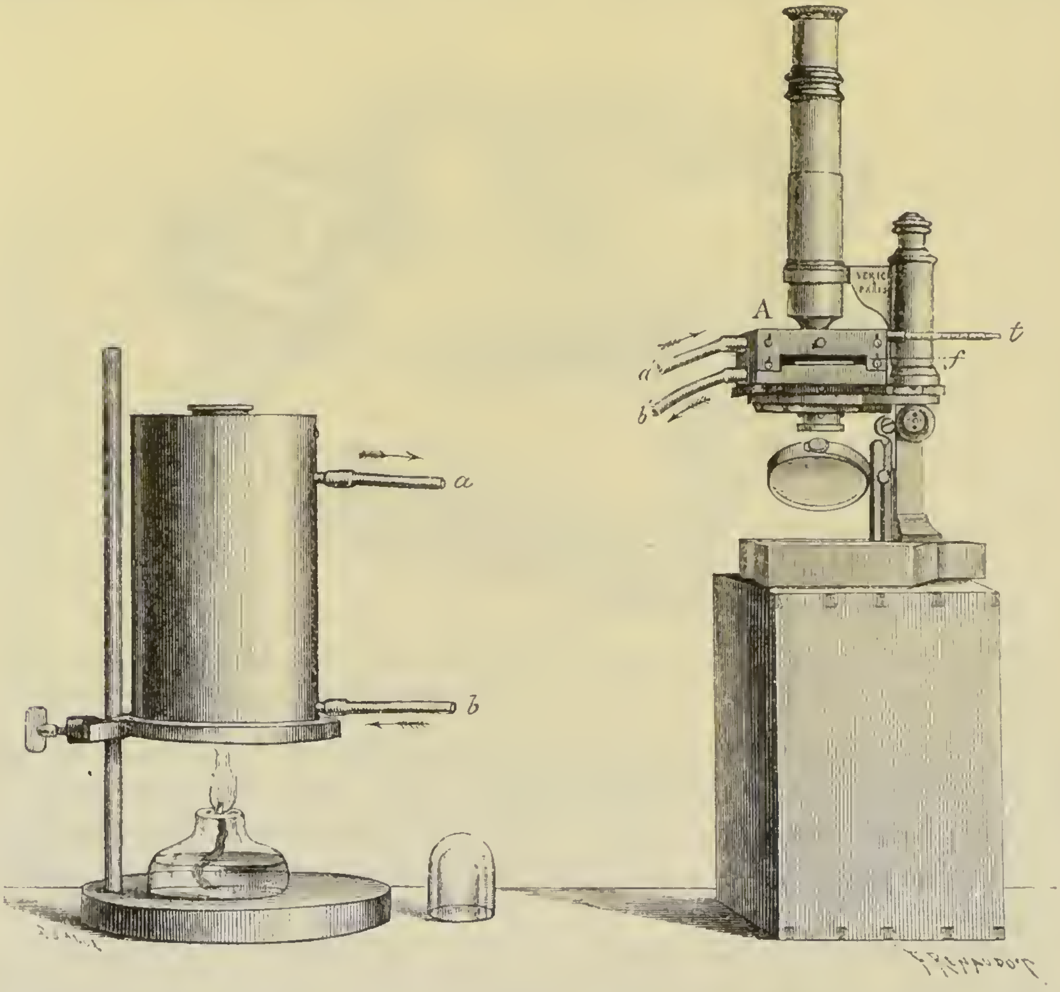


Fig. 25. — Microscope à platine chauffante : A. platine; *f*, fente dans laquelle la préparation est placée; *t*, thermomètre; le tube de caoutchouc *a* se continue en *a'* et le tube *b'* en *b*.

le tube supérieur communique avec la partie supérieure de la marmite, et l'inférieur avec la partie inférieure, il s'établit, entre la marmite et la caisse de laiton, une circulation constante qui maintient l'eau à la même température dans les deux récipients.

Pour que la température s'élève dans la platine en même temps que dans la marmite, il est nécessaire que la platine, et par conséquent le microscope, soient à un niveau plus élevé que la marmite; on place à cet effet le microscope sur un support. Il est indispensable, en outre, de s'assurer que tout le système ne contient pas d'air; autrement, la circulation ne se ferait pas.

Le grand avantage de cet appareil, c'est qu'on peut facilement y maintenir une température constante pendant plusieurs heures; on peut même, quand l'eau est portée à 39 ou 40 degrés, continuer l'observation pendant un quart d'heure sans chauffer, car le refroidissement se fait très lentement, vu la grande quantité d'eau dont la température a été élevée. Comme la préparation se trouve au centre même de la platine, que le trou placé au-dessous d'elle et qui laisse passer la lumière est fermé par un diaphragme de verre, que l'objectif ferme à peu près complètement l'orifice supérieur, et qu'on peut même compléter cette occlusion avec une couronne d'ouate, l'objet soumis à l'examen se trouve à l'abri de toutes les causes de refroidissement, et sa température est très voisine de celle qui est indiquée par le thermomètre. On peut remplacer la marmite par une petite étuve à température constante comme, du reste, l'a fait d'Arsonval.

Chambre humide et chambre à gaz. — Il importe souvent d'étudier les éléments dans les conditions qui se rapprochent le plus de celles dans lesquelles ils vivent : or tous les tissus sont sans cesse imbibés de liquide; il faut donc les maintenir dans un liquide, à l'abri de l'évaporation, sans cependant empêcher l'oxygène d'arriver et de vivifier les éléments. C'est à quoi doit servir la chambre humide.

Recklinghausen, le premier, s'en est servi pour observer les mouvements amiboïdes des globules blancs et de certaines cellules de la cornée. Sa chambre humide consiste en un anneau de verre, *a*, collé sur une lame de verre (fig. 26); à cet anneau est adapté un manchon de baudruche dont l'autre ouverture est fixée sur l'objectif, qui doit être un objectif à immersion, parce qu'il doit plonger dans le liquide au milieu duquel nagent les éléments. Cet appareil est mauvais, car les moindres mouvements de l'objectif déplacent l'objet, et le plus souvent l'on n'arrive plus à le retrouver.

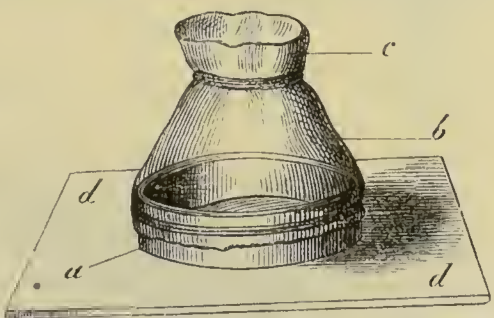


Fig. 26. — Chambre humide de Recklinghausen : *d*, lame de glace; *a*, bordure circulaire de verre autour de laquelle est appliquée la membrane de baudruche *b*; *c*, lien circulaire destiné à fixer le manchon de baudruche sur l'objectif.

Un procédé dont on fait souvent usage pour avoir rapidement une chambre humide, consiste à placer l'objet sur la lamelle dans une goutte de liquide; on retourne ensuite cette lamelle soit sur une lame de verre à godet, soit sur une lame ordinaire sur laquelle on a mis une bordure assez élevée de cire ou de mastic, bordure sur laquelle reposent les bords de la lamelle; la goutte de liquide se trouve ainsi placée au contact de l'air et à l'abri de l'évaporation. Ce procédé, qui peut rendre des services dans certains cas, a deux inconvénients : le premier, c'est que la couche de liquide n'a pas une épaisseur uniforme; le second, c'est que les éléments s'y déplacent trop facilement et qu'il n'est pas toujours aisé de les retrouver.

Les chambres humides et à gaz dont nous nous servons et qui réunissent

toutes les conditions nécessaires aux expériences, présentent une certaine analogie avec celles qui ont été décrites par Stricker (*loc. cit.* p. VII); on peut les construire facilement soi-même.

On prend une lame de glace bien plane, sur laquelle on fixe avec de la térébenthine cuite des bandelettes de glace d'un centimètre de largeur environ, de manière à circonscrire un espace rectangulaire qui forme comme une petite cuvette. Au milieu de cette cuvette on colle de la même

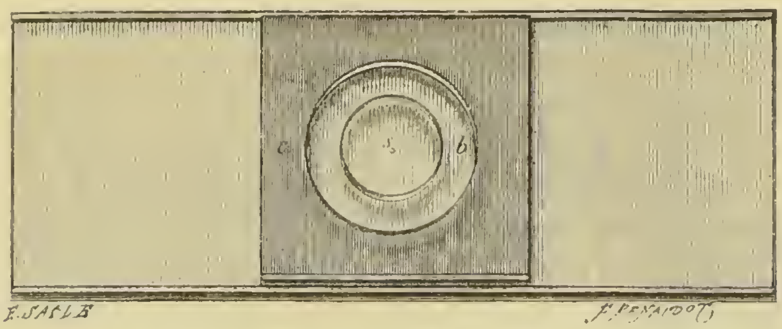


Fig. 27. — Chambre humide à air : *s*, disque sur lequel on place les éléments et le liquide destinés à l'examen; *b*, rigole contenant de l'air; *c*, plaque sur laquelle reposent les bords de la lamelle.

façon un petit rectangle de verre choisi de telle dimension qu'il laisse entre lui et les bords de la cuvette une petite rigole; il doit être un peu moins épais que les bords de la cuvette. C'est sur ce plateau qu'on dépose l'objet; on le recouvre d'une lamelle de verre que l'on fixe avec de la paraffine. L'objet se trouve ainsi, avec le liquide dans lequel il est contenu, à l'abri

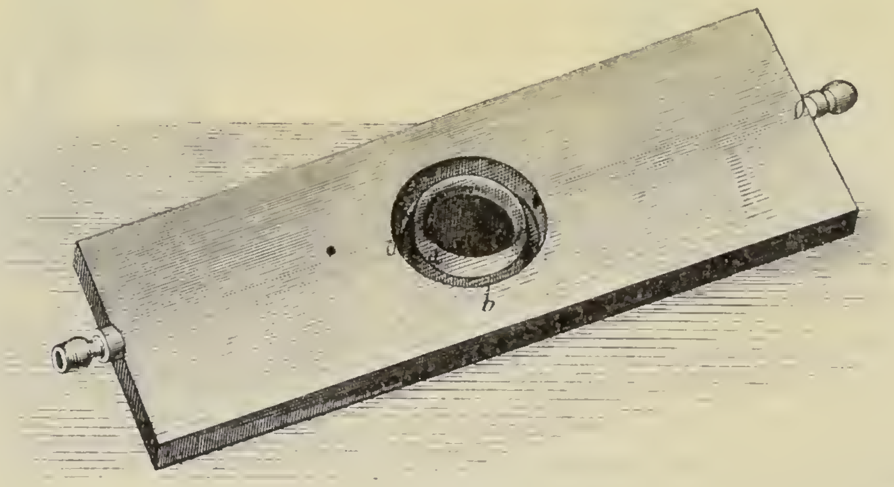


Fig. 28. — Chambre humide et à gaz.

de l'évaporation et entouré d'une couche d'air logée dans la rigole de la chambre humide.

Si cet objet est emprunté à un animal à sang chaud, on place la chambre humide dans la platine chauffante.

On trouve chez les opticiens des chambres humides construites sur ces données; ce sont celles dont nous faisons usage habituellement (fig. 27).

M. Verick, opticien à Paris, a construit, sur nos indications, des chambres

à gaz constituées par une plaque de laiton de la forme et de la dimension d'une lame de verre porte-objet (fig. 28). A son milieu cette plaque est percée d'un trou circulaire dont la face inférieure est fermée par une lame de glace d'environ 2 centimètres de diamètre. Au centre de cette lame est fixé un disque de glace, *a*, d'un diamètre plus petit, de manière à laisser entre lui et le bord du trou percé dans la lame de laiton une rigole circulaire, *b*. Ce disque est disposé de façon que sa face supérieure n'arrive pas tout à fait au niveau de la lame de laiton, de telle sorte qu'en recouvrant celle-ci avec une lamelle de verre, il reste entre la lamelle et le disque une épaisseur libre d'environ $\frac{1}{10}$ de millimètre. De plus, la plaque de laiton est percée, dans sa longueur, de deux trous aboutissant en dedans à la rigole centrale et aux extrémités, à deux tubulures qui permettent d'y fixer de petits tubes de caoutchouc, par lesquels on fait entrer et sortir les gaz qui exerceront leur action sur la préparation.

Porte-objet électrique. — C'est un appareil destiné à faire passer un courant électrique au sein d'un tissu ou d'un liquide qui contient des éléments. Ce porte-objet est très simple. Il consiste en deux lames d'étain de 3 à 4 millimètres de largeur, fixées sur la lame de verre au moyen d'un mastic résineux, de la cire à cacheter par exemple, et communiquant par des fils de platine avec les pôles d'un petit appareil d'induction.

CHAPITRE II

INSTRUMENTS

Outre le microscope que nous venons d'indiquer avec ses accessoires, l'histologiste a besoin d'une série d'intruments que nous allons passer en revue. A propos de chacun d'eux, nous indiquerons les qualités qu'il doit avoir et les défauts qui l'empêchent de remplir son but. Quant à l'emploi de ces instruments, nous en traiterons quand nous parlerons des méthodes générales.

Lames et lamelles. — On appelle lames porte-objets, les plaques de verre sur lesquelles on place les objets pour les examiner, et lamelles couvre-objets, les plaques plus minces dont on se sert pour les recouvrir. Dans le cours de cet ouvrage, nous nous servirons simplement des mots lames et lamelles, et il sera entendu, une fois pour toutes, que pour nous les lames sont les porte-objets et les lamelles, les couvre-objets.

On trouve les lames de verre chez les fabricants de microscopes, chez les marchands de verrerie pour les laboratoires. Il y en a de deux espèces. Les unes sont simplement faites de verre de vitre, c'est-à-dire de verre soufflé choisi dans les bonnes qualités; elles ne sont jamais parfaitement planes;

sur les bords, elles présentent une cassure nette avec laquelle on peut se couper dans les doigts ou rayer la platine du microscope. Les autres sont des lames de glace qui sont planes, bien transparentes et arrondies sur les bords; leur seul inconvénient est leur prix élevé.

Pour les lamelles, l'industrie française n'en fournit pas encore de parfaites. Les Anglais seuls nous en livrent d'assez minces. Pour permettre de bonnes observations microscopiques, elles devraient toutes avoir la même épaisseur (voy. plus haut, p. 17). Mais comme on les obtient par le soufflage, il arrive que, sur une même plaque, souvent l'épaisseur varie. Le mieux c'est de trier celles qu'on peut se procurer, et de les classer suivant leur épaisseur, en réservant les plus minces pour les plus forts grossissements.

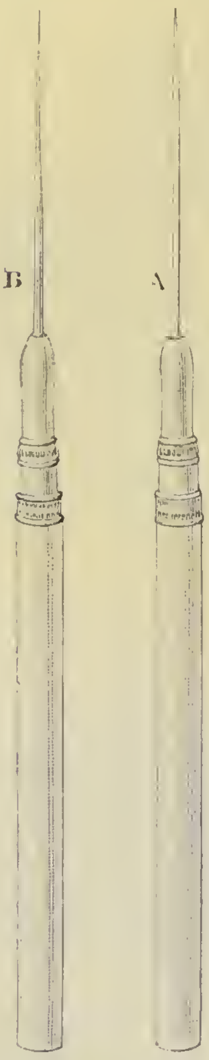


Fig. 29. — Aiguilles pour la dissociation des tissus, disposées sur des porte-mine.

Aiguilles. — Les aiguilles dont on fait usage en histologie sont généralement fixées sur un manche; on peut aussi employer des aiguilles ordinaires qu'on adapte à un manche, soit au moyen d'une vis de pression, soit par tout autre procédé. On peut se servir avantageusement dans ce but des porte-mine qu'on trouve dans le commerce, ou des porte-crochet. Les aiguilles à coudre ordinaires, A (fig 29), sont bonnes, mais pas tout à fait assez fines; pour leur donner une bonne pointe, il suffit de les repasser sur une meule. Il importe aussi qu'elles soient très propres et très polies; les rugosités qu'elles pourraient présenter retiendraient, comme autant de petits crochets, les parties délicates dans les préparations fines. Ce poli leur est donné, soit avec une pierre fine employée à l'huile ou à la glycérine, soit avec de l'émeri très fin.

Pour certaines préparations il est essentiel de pouvoir agir sur le tissu avec une certaine longueur de l'aiguille, par exemple lorsqu'il s'agit de couper un filament isolé sur la lame de verre. Il est nécessaire alors d'avoir des aiguilles, B (fig. 29), qui soient assez fortes à la partie qui est voisine du manche, tandis que vers l'extrémité elles sont beaucoup plus minces et par conséquent plus souples; de cette façon en appuyant fortement sur la pointe, on arrive à faire presser l'aiguille sur la lame de verre dans une étendue de 2 à 3 millimètres et à couper les objets interposés.

J'ai fait construire chez M. Aubry des aiguilles de platine iridié qui conviennent pour manier les tissus dans les solutions de nitrate d'argent ou de chlorure d'or, parce qu'elles n'y éprouvent pas d'altérations et qu'elles n'en altèrent pas la pureté.

Instruments tranchants. — *Scalpels.* — Outre les scalpels à dissection ordinaires, il faut avoir de petits scalpels très bien trempés; on est souvent

obligé de couper des parties de la préparation lorsqu'elle est déjà sur la lame, et l'on émousserait très vite le tranchant d'un scalpel à trempe molle.

Couteau double de Valentin. — Pour enlever d'un seul coup de très fines tranches d'un tissu, Valentin a imaginé un couteau (fig. 50) composé de deux lames parallèles qu'on peut écarter ou rapprocher à volonté à l'aide d'une vis de pression, de manière à rendre l'espace intermédiaire aussi petit qu'on voudra. Il suffit d'enfoncer ce couteau dans un tissu, dans le foie, dans le rein par exemple, pour qu'il en reste une coupe très mince entre les deux lames. C'est un instrument peu employé, et auquel on supplée avantageusement par un bon rasoir.

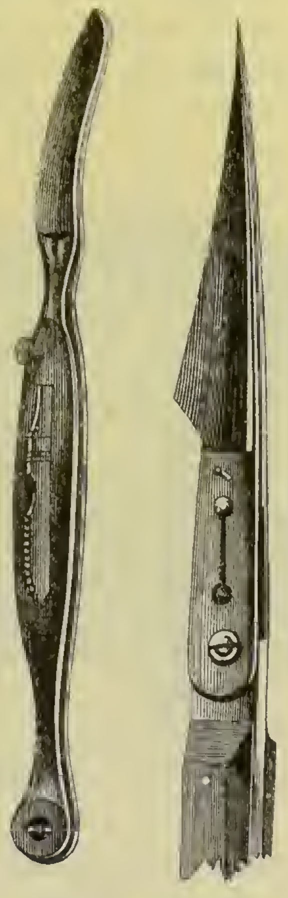


Fig. 50. — Deux modèles de couteaux doubles.

Rasoirs. — C'est avec le rasoir que se font presque exclusivement les coupes minces qu'on porte sur les lames; c'est donc un instrument essentiel pour l'histologiste. On peut se servir soit de rasoirs ordinaires, soit de rasoirs spéciaux. Il faut en avoir de trempe différente, suivant qu'on veut pratiquer des coupes dans des tissus fermes, ou dans des tissus mous, ou dans des tissus séchés; pour les tissus fermes, il faut des rasoirs de trempe dure, tandis que pour les tissus mous et délicats des rasoirs à trempe molle conviennent mieux. On a des rasoirs spéciaux qui ont un côté plan (le côté gauche quand on regarde le tranchant) et un côté évidé; le côté plan repose sur l'objet qu'il s'agit de couper. On se sert aussi et plus généralement de rasoirs évidés des deux côtés. Ils donnent un biseau d'autant plus aigu qu'ils sont plus évidés, par conséquent ils pénètrent d'autant mieux dans l'intérieur des tissus. Cependant il y a une limite. Si le rasoir est trop mince, le tranchant, cédant en certains points à la pression, ne forme plus une ligne droite, et la coupe devient inégale.

Il est très important de savoir repasser soi-même son rasoir. La pierre qu'on doit employer de préférence est la pierre blanche. Il ne faut jamais repasser à la pierre sèche; d'autre part, avec l'eau, ces pierres ont trop de mordant. L'huile est préférable. On peut aussi employer la glycérine; mais elle fait trop glisser le rasoir : on sent qu'il ne mord pas sur la pierre. Il faut la mélanger d'un peu d'eau.

Pour aiguiser, il faut tenir le rasoir à plat sur la pierre et mettre le tranchant en avant; on évite ainsi le morfil, c'est-à-dire cette petite lamelle d'acier qui adhère au tranchant et qui, en se repliant d'un côté ou de l'autre, l'empêche d'agir. On constate que le rasoir coupe bien en l'essayant sur l'épiderme; on s'assure, en passant le tranchant sur l'ongle, qu'il ne présente pas de brèches. Pour donner au tranchant du rasoir toute la finesse nécessaire, il faut, après l'avoir aiguisé sur la pierre, le passer sur le cuir.

Ces manipulations exigent de la légèreté de main et une certaine habitude. On fera bien de demander quelques leçons à un bon coutelier.

Ciseaux. — On se sert, en histologie, de ciseaux de diverses formes; il faut en avoir surtout de petits, droits et courbes, dont le tranchant soit vif et dont la trempe soit dure. Il convient qu'ils aient des manches très longs, parce qu'on les emploie le plus souvent à couper des objets plongés dans des liquides. Les lames peuvent être très courtes.

Scies. — La scie dont on fait usage en histologie est la scie d'horloger, qu'on trouve dans la quincaillerie, mais il faut adapter à son manche les petites lames très fines qu'on emploie pour la marqueterie; il faut les monter avec attention, de manière que les deux bords soient également tendues et que la scie ne gondole pas. On peut aussi employer la scie à phalanges et la scie de dentiste.

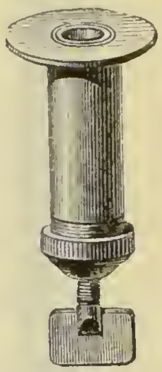


Fig. 51. Microtome.

Microtomes. — Pour faire avec sûreté et sans difficulté des coupes minces de tissus ou de fragments d'organes convenablement durcis, on se sert du microtome. Il y en a de plusieurs espèces. Celui que nous avons imaginé et que nous avons décrit dans une note de la première édition française du *Traité d'histologie* de Frey, page 712, est composé de plusieurs tubes de laiton emboîtés les uns dans les autres. Le plus gros de ces tubes, extérieur par rapport aux autres, porte une plate-forme circulaire à l'une de ses extrémités. Son extrémité opposée présente une douille avec un écrou dans lequel passe une vis portant un petit plateau, mobile sur son axe, qui s'élève ou s'abaisse plus ou moins, suivant qu'on fait tourner la vis.

Deux points sont à considérer lorsqu'on choisit un de ces microtomes. Il faut que le bord extérieur de la plate-forme soit mousse et presque arrondi; autrement on risquerait de l'entamer avec le tranchant du rasoir en faisant une coupe. En second lieu, il faut que le plateau mobile dépasse un peu la tête de la vis qui le relie à sa tige; autrement la vis, en tournant avec la tige, peut faire tourner la pièce incluse dans le microtome. Nous reviendrons plus loin sur la manière d'employer cet instrument.

Betz[1] a recommandé depuis un microtome analogue à celui dont nous venons de donner la description : il n'est pas aussi commode; il manque de la plate-forme qui guide le rasoir.

Le microtome en bois de Rivet, qui est excellent pour faire des coupes de tissus végétaux, n'a pas de nombreuses applications à l'histologie animale, parce que, pour les coupes des tissus animaux, nous sommes toujours obligés d'employer des liquides.

Le texte que l'on vient de lire est le même que celui de la première édition de cet ouvrage; peut-être a-t-il inspiré ceux qui ont modifié le microtome de M. Rivet et en ont fait un instrument qui fournit aujourd'hui les coupes les plus minces et les plus régulières.

1. *Betz*, Archiv. für microscop. Anatomie, 1873, p. 110.

MM. Thoma et Jung ont construit un microtome dont le principe est le même que celui de M. Rivet. M. Verick, d'après le modèle des constructeurs précédents, a, quelque temps après, fabriqué un instrument analogue représenté figure 52. Ce microtome se compose essentiellement de deux gouttières métalliques fixées sur un socle pesant; l'une des gouttières est horizontale, l'autre légèrement inclinée sur le plan horizontal. Dans la première de ces gouttières est placé un chariot auquel est adapté le couteau ou le rasoir, destiné à réduire en coupes l'objet que l'on veut étudier. Celui-

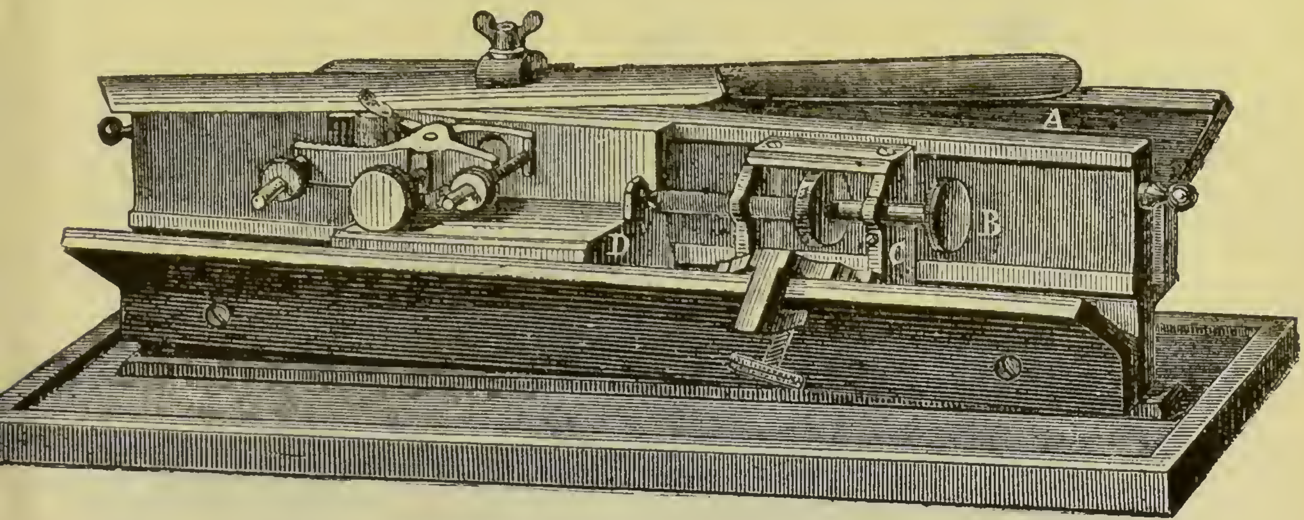


Fig. 52. — Microtome de Thoma et Yung, fondé sur le principe du microtome Rivet.
A, gouttière dans laquelle glisse le chariot porte-rasoir; B, bouton de la vis micrométrique agissant sur le chariot D, sur lequel est fixée la pièce à couper; C, pièce de métal fixée à la gouttière oblique et maintenant la vis micrométrique.

ci est fixé à l'aide d'une pince sur une pièce de métal D placée dans la deuxième gouttière. La pince est mobile autour de deux axes, l'un horizontal et l'autre vertical, de manière que l'objet à couper puisse occuper différentes positions. La pièce de métal, qui supporte la pince, glisse dans la gouttière inclinée et se trouve en contact avec la pointe d'une vis micrométrique montée horizontalement sur un chariot fixé lui-même en un point déterminé de la gouttière à l'aide d'une vis de pression.

Lorsque l'on tourne le bouton B de la vis micrométrique, la pièce D glisse et s'élève dans la gouttière inclinée et, par suite, la surface de l'objet à couper se trouve dans un plan supérieur à celui que décrit le tranchant du couteau lorsqu'on fait glisser dans la gouttière horizontale le chariot qui porte ce dernier.

A un nombre donné de tours de la vis micrométrique, correspond une élévation déterminée de l'objet à couper, de telle sorte que les coupes présentent une épaisseur connue.

Ce microtome est un instrument de précision dont les pièces doivent être parfaitement ajustées et nettoyées avec un soin particulier.

Le microtome de Roy est construit d'après des données toutes différentes de celles qui ont été utilisées dans la fabrication des instruments précédemment décrits.

Dans cet appareil, l'objet que l'on veut réduire en coupes est maintenu, à l'aide d'une pince, sur une pièce de métal ayant à peu près la forme d'un fer à cheval placé de champ. La première des branches du fer à cheval est fixée à un socle de bois dur et pesant; la deuxième supporte la pince porte-objet; la troisième, réunissant les deux autres, porte deux écrous dans lesquels tourne, à frottement dur, une vis micrométrique verticale. On peut, à volonté, faire monter ou descendre cette vis à l'aide d'une manette munie d'un encliquetage à double effet, agissant sur une roue dentée fixée au voisi-

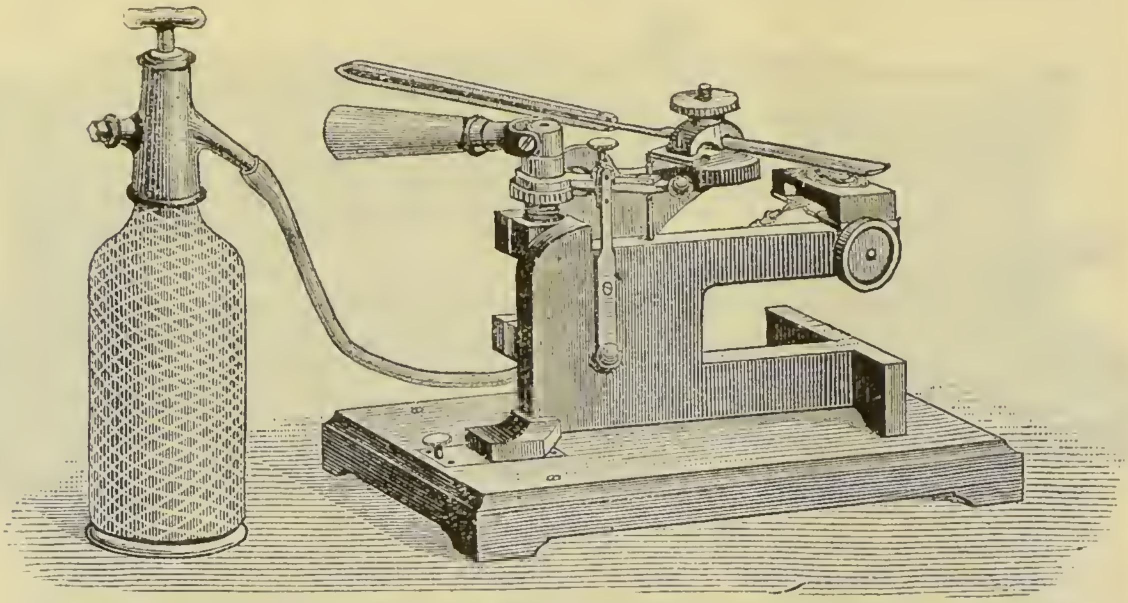


Fig. 55. — Microtome de Roy, modifié par Malassez; le siphon contenant le chlorure de méthyle est à gauche de l'instrument; la pièce à couper est fixée sur le support à congélation, qui serait remplacé par une pince, si l'on ne voulait pas employer la congélation.

nage de l'extrémité supérieure de la vis. Ce mouvement se communique à une pièce métallique en potence dont le montant est uni, à l'aide d'articulations sur pointes, aux extrémités supérieure et inférieure de la vis micrométrique et dont la branche horizontale supporte le rasoir. Un levier en forme de manette, fixé au montant de la potence, permet de faire tourner cette dernière à la manière d'un volet, de telle sorte que l'objet à couper étant fixé, le rasoir élevé à la hauteur voulue par le mouvement de la vis micrométrique peut, lorsqu'on agit sur la manette, entamer l'objet.

On exécute à l'aide de cet instrument des coupes de pièces durcies suivant l'un des procédés indiqués plus loin, ou congelées à l'aide d'un pulvérisateur à éther.

M. Malassez a perfectionné la construction du microtome de Roy en lui faisant subir les modifications suivantes :

L'objet à couper est maintenu dans une pièce fixée dans la pince porte-objet à l'aide d'une articulation dite à genou, de telle sorte que cet objet puisse être présenté au rasoir suivant l'orientation que l'on désire.

La pièce qui porte le rasoir vient buter, lorsqu'elle est ramenée à son point de départ, contre la manette qui commande la vis micrométrique, et elle est maintenue par un ressort; elle fait ainsi tourner la vis micrométrique

d'une quantité égale à un cran de la roue dentée. La vis micrométrique a un pas de $\frac{1}{2}$ millimètre; la roue dentée est munie de 50 dents, en sorte que chaque fois que la pièce qui porte le rasoir est ramenée à son point de départ, elle se trouve abaissée de 1 centième de millimètre. On fera buter la pièce deux fois, si l'on veut obtenir des coupes de 2 centièmes de millimètre d'épaisseur; trois fois si l'on désire des coupes de 3 centièmes, etc.

Afin de pouvoir pratiquer des coupes dans l'alcool, le microtome, mobile sur le socle, peut être renversé et placé verticalement, de manière que le rasoir et la pièce à couper viennent baigner dans un vase rempli d'alcool (voy. fig. 54).

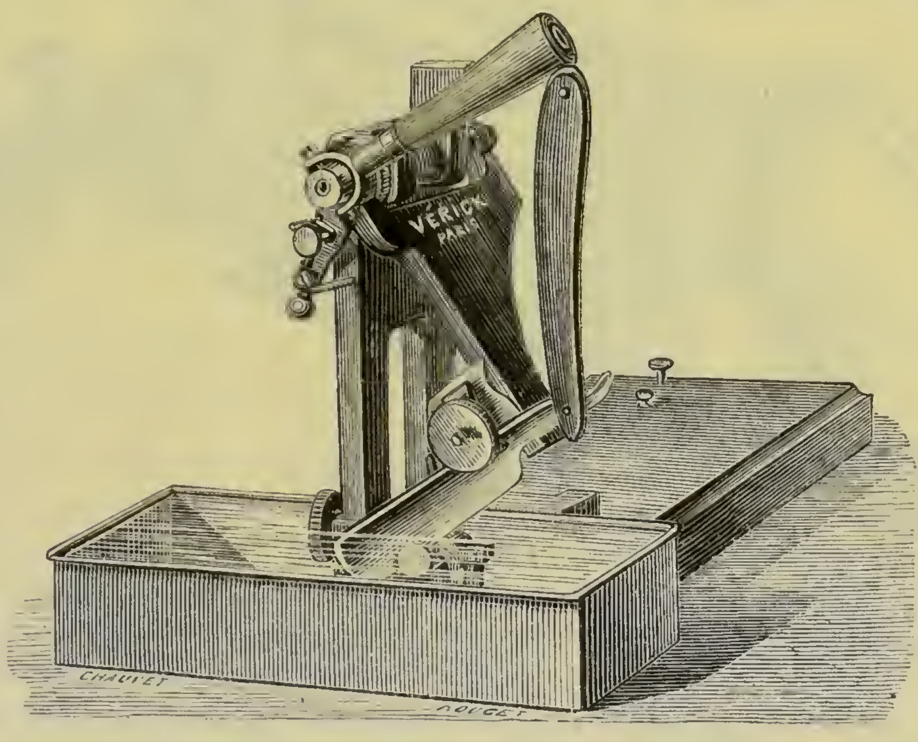


Fig. 54. — Microtome de Roy, modifié par Malassez; l'instrument est renversé de manière que le rasoir et la pièce à couper plongent dans un baquet rempli d'alcool.

Pour exécuter des coupes de tissus congelés, Malassez remplace la pulvérisation d'éther, très longue et très couteuse, par la projection de chlorure de méthyle sous la plaque qui sert de support à l'objet à couper (voy. fig. 53).

Le microtome à bascule, de Cambridge, est destiné à réduire en coupes des objets enrobés dans de la paraffine. Chaque coupe entourée de paraffine est fixée à sa voisine et, réunies toutes ensemble par deux bords opposés, elles constituent une série de coupes en forme de ruban (voy. fig. 55).

Dans cet instrument, la lame du rasoir est maintenue à l'aide de deux vis de pression dans deux supports, de telle sorte que son tranchant regardant en haut soit horizontal. L'objet à couper, inclus dans de la paraffine est fixé à un cylindre creux qui glisse à frottement doux à l'extrémité d'une tige métallique basculant autour d'un axe horizontal et parallèle au tranchant du rasoir. L'extrémité de cette tige qui porte l'objet est tirée en bas par un ressort à boudin. A son autre extrémité est attaché un fil commandé par une manette. Lorsqu'on agit sur cette manette, cette extrémité baisse, tandis que celle qui porte la pièce se relève. Quand on cesse d'agir sur la manette, l'extrémité

qui porte la pièce est attirée en bas par le ressort, en même temps que l'objet est entamé par le rasoir.

L'axe qui porte la bascule repose sur un affût qui est lui même mobile autour d'un axe horizontal parallèle au précédent et placé au-dessous de lui. Il en résulte que, si l'on vient à élever l'extrémité de l'affût, l'axe de la bascule est porté en avant et la pièce se trouve ainsi avancée au-dessus du rasoir.

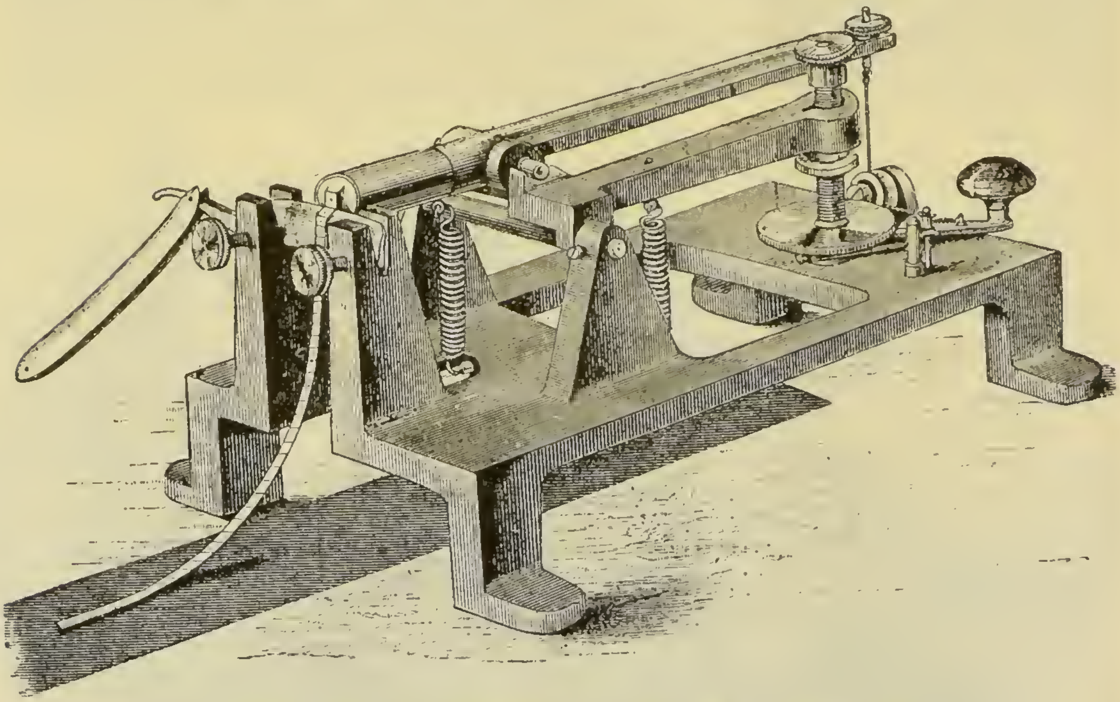


Fig. 55. — Microtome à bascule de Cambridge; le rasoir est fixé dans la position qu'il doit occuper lorsqu'on veut faire fonctionner l'instrument; les coupes réunies les unes aux autres forment un ruban.

Ce mouvement de l'affût est produit par une vis micrométrique mise en mouvement par la manette qui commande la bascule, en sorte que la pièce à couper est portée en avant au moment même où elle atteint son maximum d'élévation. Un encliquetage permet de faire tourner la vis d'une quantité déterminée et, par suite, de faire avancer la pièce d'une longueur également déterminée.

MM. Henneguy et Vignal ont apporté à cet instrument les deux modifications suivantes : l'objet à couper est fixé à une pièce mobile autour de deux axes, l'un vertical et l'autre horizontal, disposition qui permet de modifier l'orientation des coupes. En second lieu, une échelle indique en fractions de millimètre l'épaisseur de la coupe que l'on veut obtenir.

Instruments et appareils divers. — *Flacons*. — Les flacons doivent être à large ouverture, fermés soit avec des bouchons de liège, soit à l'émeri, soit avec les fermetures anglaises de caoutchouc, qui sont suffisantes et moins chères.

Baquets de porcelaine. — Il faut choisir aussi de petits baquets couverts, de porcelaine, comme les pots de pommade des parfumeurs; ils préservent les préparations de la poussière et ne permettent qu'une évaporation lente. Il faut aussi des soucoupes, des cloches de verre, des verres de montre, etc.

On trouve aujourd'hui dans le commerce de petits baquets de verre munis d'un couvercle fermant exactement. Fabriqués spécialement pour les histologistes, ils sont d'un usage avantageux.

Seringues. — Outre les seringues à injections ordinaires, dont nous parlerons en détail plus loin à propos des injections, il faut avoir, pour les injections interstitielles une petite seringue hypodermique. Pour qu'elle ne s'altère pas, elle doit être de verre monté sur argent, avec une canule d'or. On injecte en effet assez souvent des liquides qui attaqueraient l'acier ou le cuivre. J'ai fait faire chez M. Aubry des canules en platine iridié dont l'ouverture terminale est très voisine de la pointe. Ces canules conviennent aux injections par piqûre, notamment à celles des lymphatiques.

Pinceaux. — Outre les pinceaux ordinaires, il faut avoir au moins un bon pinceau d'aquarelliste, de poil de martre. Ce poil a l'avantage de ne pas trop se ramollir dans l'eau.

Pierre ponce — On trouve la pierre ponce dans le commerce. Il faut en choisir de légère, mais qui ne présente cependant pas des cavités trop considérables; elle est meilleure quand elle a un aspect nettement fibreux. Pour l'employer, il faut la scier, non pas perpendiculairement, mais parallèlement aux fibres. Elle sert à user des pièces dures, des os, des dents, pour en rendre les coupes plus minces.

Étau. — L'étau est nécessaire pour saisir les pièces osseuses afin d'y faire des coupes avec les petites scies décrites un peu plus haut.

Pinces. — Les pinces de l'histologiste doivent être à mors plats et très fins. Le mieux est de leur donner une forme nettement triangulaire, celle d'un triangle isocèle très allongé; cela augmente la solidité du ressort et rend la pince plus facile à tenir en main.

Épingles. — Il faut en avoir de deux sortes, les unes très longues, comme les épingles à insectes, les autres très courtes.

Fil. — On doit avoir du fil de lin de divers numéros. Pour les injections, le meilleur fil à employer est un fil de chanvre non tordu qu'on trouve chez les fournisseurs des cordonniers. Ce fil est solide quand il est ciré, et les ligatures que l'on fait avec, s'appliquent exactement.

Lames de liège. — Il est nécessaire d'avoir des lames de liège de diverses grandeurs, qui servent, soit à étendre les préparations, soit à fixer les animaux.

Immobilisation des animaux. — Pour immobiliser les grenouilles, il suffit de prendre une lame de liège rectangulaire qu'on perce de trous au niveau des membres de l'animal. On passe une anse de fil dans chacun de ces trous, et un membre de l'animal dans chaque anse; chacun des membres est ainsi fixé à la planchette. L'animal est parfaitement immobilisé, et rien ne gêne l'observateur.

Curare. — On peut aussi immobiliser la grenouille sans appareils, au moyen du curare. Les grenouilles curarisées restent longtemps immobiles : ainsi une grenouille qui avait reçu deux gouttes d'une solution à $\frac{1}{1000}$ d'un curare de bonne qualité, resta sept jours curarisée et reprit ensuite ses

mouvements. Contrairement à ce que dit Cohnheim[1], le curare exerce une action sur la circulation : au début, les petites artères sont resserrées; plus tard elles sont relâchées. C'est un fait à noter lorsqu'on immobilise une grenouille dans le but d'étudier la circulation.

Chloroforme. — On peut aussi employer le chloroforme, et pour cela il suffit de laisser plongée pendant quelques instants une grenouille dans de l'eau qui contient du chloroforme en solution. Il n'agit pas comme le curare, sur les petites artères, mais, en revanche, l'immobilisation qu'il produit est passagère.

Il en est de même du procédé de M. Bernard, qui consiste à tremper les grenouilles dans de l'eau à 37 ou 38 degrés. Pour certaines expériences, cette immobilisation n'est pas d'assez longue durée.

Une des meilleures méthodes d'immobilisation de la grenouille consiste à lui détruire la moelle à l'aide d'un stylet pointu que l'on introduit dans la colonne vertébrale, à l'union de la tête et du corps.

Quand une grenouille est immobilisée, il suffit d'étaler soit la patte soit la langue, soit les poumons, sur un porte-objet convenable pour pouvoir y examiner la circulation.

Pour immobiliser les mammifères, on peut aussi employer le curare, mais alors il faut pratiquer la respiration artificielle.

Mors pour immobiliser les rats. — Pour immobiliser le rat, nous nous servons d'un mors spécial que chacun peut fabriquer avec du fil de fer, et dont nous donnons ici le dessin (fig. 56).

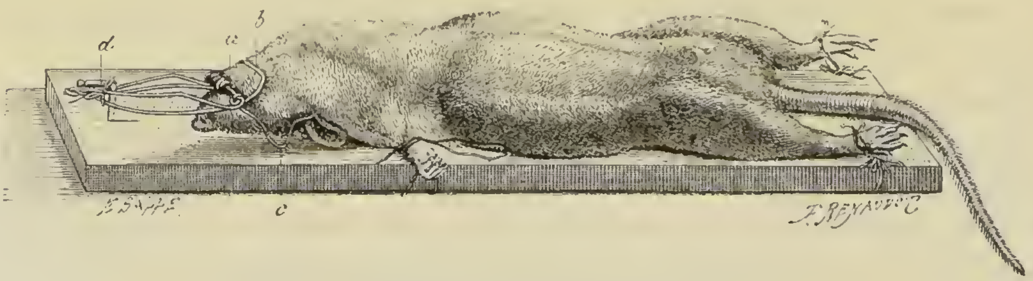


Fig. 56. — Appareil pour immobiliser les rats.

Il est composé de deux pièces mobiles l'une sur l'autre, autour d'un axe commun, *a*. Cet axe est placé dans la bouche de l'animal et retenu derrière ses incisives; l'une de ces pièces, *b*, s'applique sur le maxillaire inférieur, l'autre, *c*, derrière la nuque; on les rapproche l'une de l'autre, et la tête est solidement fixée. On les maintient au moyen d'un fil noué *d*. Une fois le mors adapté, le rat est dompté; on peut le coucher sur le dos, et l'immobiliser en l'attachant sur une planchette où il est parfaitement maintenu.

Mors pour immobiliser les lapins. — Pour immobiliser le lapin, Czermack a inventé un mors très compliqué. L'appareil que nous employons est beaucoup plus simple et très facile à appliquer.

Il consiste en une tige de fer (fig. 57) montée sur un support de façon à

1. *Cohnheim*, Ueber Entzündung und Eiterung (*Virchow's Archiv.*, vol. XL, 1867, p. 26).

pouvoir la mettre dans toutes les positions et terminée par un anneau perpendiculaire à son axe. Sur cet anneau peuvent se mouvoir deux petits crochets (dont l'un est figuré en *a*), aux deux extrémités desquels s'adapte un lien de caoutchouc.

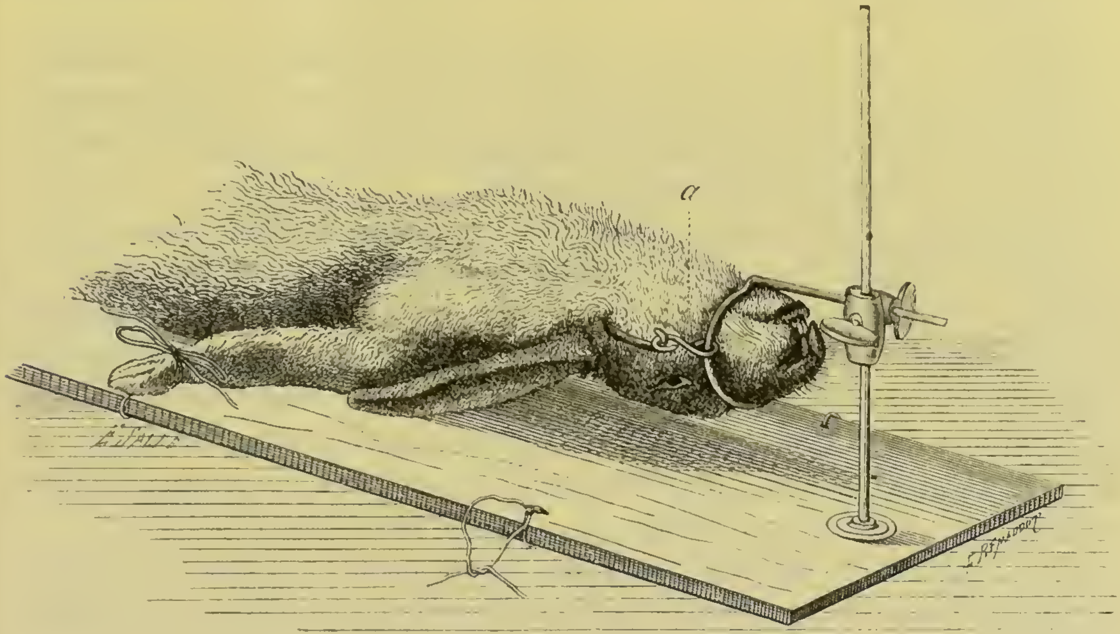


Fig. 57. — Appareil pour immobiliser les lapins.

On place le museau du lapin dans l'anneau de fer, et, fixant le lien de caoutchouc à l'un des crochets *a*, on le fait passer derrière les oreilles; son autre extrémité vient s'adapter à l'autre crochet. La tête du lapin se trouve ainsi fixée, et on lie le corps sur la planchette par les procédés ordinaires.

CHAPITRE III

RÉACTIFS CHIMIQUES

Les réactifs dont on a besoin dans un laboratoire d'histologie sont assez nombreux. Nous en donnons la liste, avec quelques remarques sur la manière de reconnaître les qualités ou les défauts de quelques-uns d'entre eux.

Solutions titrées. — La plupart de ces substances peuvent être conservées en nature; mais comme presque toutes sont généralement employées en solution plus ou moins étendue, nous avons l'habitude, dans notre laboratoire, d'en avoir des solutions faites d'avance. Ces solutions doivent être titrées, et il est bon qu'elles soient décimales, à 1 pour 10, à 1 pour 100 par exemple. Il est facile dès lors d'en faire des dilutions plus étendues.

Choix de l'eau. — Pour servir aux divers usages histologiques, l'eau doit être filtrée. Les laboratoires possèdent en général à cet effet une fon-

laine filtrante; à son défaut, il suffit de filtrer l'eau sur du papier joseph.

En outre, il est absolument nécessaire d'avoir de l'eau distillée. Pour s'assurer qu'elle l'est en effet, on y verse une goutte de nitrate d'argent pour reconnaître si elle contient des chlorures; on l'évapore à siccité pour voir si elle laisse un dépôt, etc.

Alcool. — C'est, après l'eau, le réactif le plus important. On l'emploie à différents titres : l'alcool ordinaire à 90°, l'alcool fort à 95°, et l'alcool absolu.

Quand on fait des recherches minutieuses, il faut vérifier auparavant le titre de l'alcool au moyen d'un alcoolomètre.

Alcool absolu. — L'alcool absolu est un réactif précieux, mais il est nécessaire qu'il soit en réalité tout à fait exempt d'eau; il faut donc un moyen simple et expéditif de le reconnaître. Pour cela, on calcine du sulfate de cuivre ordinaire dans une capsule de porcelaine, sur une lampe à alcool ou à gaz. Le sel devient blanc. On en met une parcelle au fond d'une éprouvette avec un peu de l'alcool que l'on veut essayer. Si l'alcool est absolu, le sel reste blanc; s'il contient de l'eau, le sel s'en empare, s'hydrate, et reprend une couleur bleuâtre ou verdâtre.

Il faut maintenir l'alcool absolu dans des flacons bien bouchés, non seulement parce qu'il s'évapore, mais parce qu'il est hygrométrique et qu'il absorberait la vapeur d'eau de l'atmosphère.

Glycérine. — La bonne glycérine doit être sirupeuse, exactement soluble dans l'eau et dans l'alcool. Il est nécessaire qu'elle ne soit pas acide, ce que l'on constate au moyen du papier de tournesol; il faut aussi qu'elle ne contienne pas de plomb, ce que l'on reconnaît au moyen de l'hydrogène sulfuré, ou du sulfhydrate d'ammoniaque.

Éther.

Chloroforme.

Xylol.

ESSENCES DIVERSES :

Essence de térébenthine.

Essence de girofle ou d'œillet. — Elle doit être très peu colorée.

Benzine.

Huile d'olive.

Paraffine.

Cire vierge.

Bitume de Judée.

Cire à cacheter. — Elle doit être de première qualité et devenir souple dans la main.

Baume du Canada. — On connaît sous ce nom des résines de provenances diverses. Le meilleur baume est celui dont l'indice de réfraction se rapproche le plus de celui du verre. Pour s'en assurer, il suffit de plonger dans le flacon qui le contient une baguette de verre. Quand le baume possède cette qualité, la baguette de verre devient invisible (voy. plus haut, page 11) ou n'est plus reconnaissable qu'à ses stries.

Mastic en larmes.
Résine dammare.
Térébenthine cuite.
Collodion. — Il ne faut pas qu'il soit riciné.

Acides :

Acide azotique. — Le mieux est de l'avoir en solution à 20 pour 100.

Acide chlorhydrique. — Il faut en avoir tel qu'on le livre dans le commerce, et en conserver en outre une solution à 1 pour 100.

Acide sulfurique monohydraté. — On en conserve tel quel, et en outre on s'en fait une solution à 1 pour 100.

Acide arsénieux.

Acide arsénique.

Acide chromique. — C'est un réactif important. Il ne faut accepter des marchands de produits chimiques que de l'acide chromique solide; autrement on ne peut avoir aucune certitude pour le titrage des solutions qu'on en fera. Pour la même raison, il faut le conserver dans des flacons bien bouchés, car il est hygrométrique. Comme il est difficile à maintenir sec, il vaut mieux le garder en solution définie, par exemple à 1 pour 100; avec cette solution, il est facile d'avoir des dilutions plus étendues dont on se sert. On le renferme dans des flacons bouchés à l'émeri.

Acide osmique. — Ce réactif est connu des histologistes sous le nom d'acide osmique, et c'est pour cette raison que nous l'appelons ainsi; en réalité, c'est de l'acide perosmique. Il se trouve dans le commerce contenu dans des tubes fermés à la lampe, sous la forme de masses vitreuses ou de cristaux transparents.

Pour en faire une solution, on prend un flacon lavé à l'acide sulfurique et ensuite à l'eau distillée, afin de détruire toutes les matières organiques; on met dans ce flacon une quantité d'eau distillée déterminée; puis on prend un de ces tubes scellés, on le pèse, et après en avoir brisé les deux extrémités, on le plonge dans le flacon, avec les deux bouts brisés. L'acide osmique se dissout assez lentement : quand la dissolution est effectuée, on retire le tube et les deux bouts cassés; on pèse le verre, et l'on en conclut le poids de l'acide osmique qui s'est dissous. Il faut calculer approximativement la quantité d'eau qu'on met dans le flacon par rapport au poids présumé de l'acide osmique, de manière à n'avoir pas une dilution trop étendue. Le poids d'acide osmique et le poids d'eau employé étant connus, on ajoute la quantité d'eau qu'il faut pour avoir une solution titrée à 2 pour 100 ou à 1 pour 100. Pour conserver cette solution, il est indispensable de la mettre dans des matras allongés ou dans des ballons fermés à la lampe. Vu leur prix élevé, on n'emploie ces solutions qu'en petite quantité. Quand on en a besoin, on brise d'un trait de lime l'extrémité scellée du tube, on verse la quantité voulue dans un petit flacon sur le tissu que l'on y a déposé préalablement; puis on referme le tube, soit à la lampe, soit à la cire à cacheter.

Les vapeurs de l'acide osmique sont irritantes; elles agissent d'une ma-

nière fâcheuse sur la conjonctive et le larynx. Il faut donc manier cette substance avec précaution.

Acide perruthénique.

Acide oxalique. — On l'emploie en solutions saturées à froid. Son usage est très limité.

Acide formique. — Il doit être incolore et exhaler son odeur caractéristique.

Acide acétique. — Il faut en prendre qui soit cristallisable, ce qu'on peut constater directement en hiver. On a alors un point de départ exact pour les dilutions.

Acide tartrique. — Les solutions de cet acide les mieux faites, les mieux bouchées, se couvrent de moisissures. Il faut le conserver en cristaux.

Acide picrique. — Il est solide, en petites lames cristallines d'un jaune serin franc. Les solutions doivent être préparées d'avance; comme on les emploie concentrées, il faut qu'il reste des cristaux d'acide picrique dans le fond du flacon.

Acide phénique. — Cet acide doit être pur et cristallisé; il est hygrométrique. Il convient d'en avoir des solutions à 1 pour 100 et à 2 pour 100.

Alcalis :

Potasse et soude caustiques. — On les conserve en solutions à 40 pour 100, il faut les mettre dans des flacons fermés avec un bouchon de caoutchouc. Le papier de l'étiquette doit être verni pour que la solution alcaline ne l'attaque pas.

Ammoniaque. — L'ammoniaque des solutions que l'on conserve dans les laboratoires s'évaporant, ces solutions ne peuvent pas être titrées. Il n'est, du reste, pas nécessaire qu'elles le soient pour les recherches histologiques.

Chaux et baryte. — Ce sont deux corps qui ont à peu près le même usage; on les emploie à l'état d'eau de chaux ou de baryte, que l'on conserve dans des flacons bien bouchés.

Substances salines :

Chlorure de sodium.

Bichromate de potasse.

Chlorate de potasse.

Bichlorure de mercure.

Nitrate d'argent. — Il faut le prendre cristallisé pour être sûr de l'avoir pur; il ne s'altère pas du tout à la lumière quand il ne renferme pas de matières organiques; les flacons jaunes ou bleus sont complètement inutiles. — On en fait des solutions à 1 pour 100.

Chlorure d'or. — On le trouve dans le commerce en masses d'un beau jaune, ayant l'apparence de la cire. On en fait des solutions à 1 pour 100 ou 1 pour 500. Il ne s'altère guère à la lumière diffuse, cependant il vaut mieux le conserver dans un endroit sombre.

Chlorure double d'or et de potassium. — Il est jaune, franchement cristallin, employé aux mêmes doses que le chlorure d'or.

Chlorure de palladium. — Il est brunâtre, amorphe; on le conserve en so-

lution à 1 pour 100. Il faut y ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique.

Cyanure de potassium.

Sulfate de cuivre.

Sulfate de peroxyde de fer.

Prussiate jaune de potasse.

Iodure de potassium.

MATIÈRES COLORANTES :

Iode.

Carmin. — Le carmin n'est pas une substance définie. Il s'obtient par précipitation de la solution aqueuse de la cochenille au moyen de réactifs divers qui varient suivant les fabricants, et dont ces derniers font un secret. Les carmins sont très divers; leur prix varie de 80 à 160 francs le kilogramme. Le bon carmin doit être léger et présenter une couleur d'un rouge vif. Il est insoluble dans l'eau. Il doit se dissoudre entièrement dans l'ammoniaque et ne présenter alors au microscope aucun débris solide.

Sulfate et acétate de rosaniline. — Le sulfate et l'acétate de rosaniline se trouvent dans le commerce sous le nom de rouge d'aniline. Ils se présentent l'un et l'autre sous la forme de cristaux d'un vert métallique. Ils sont solubles dans l'eau distillée; mais l'acétate est plus soluble que le sulfate. Ils sont beaucoup plus solubles dans l'alcool et dans l'acide acétique.

Bleu d'aniline. — Il se présente sous la forme d'une poudre brune; on en trouve dans le commerce deux espèces également utiles en histologie : la première, soluble dans l'alcool, insoluble dans l'eau; la seconde, soluble dans l'eau et dans l'alcool.

Bleu de méthylène.

Safranine.

Violet de gentiane.

Violet de méthyle ou violet de Paris.

Violet B.

Brun de Bismarck.

Vert de méthyle.

Toutes ces substances se trouvent dans le commerce sous la forme de poudres ou de petits cristaux; elles sont toutes solubles dans l'eau et dans l'alcool. Leur composition et leurs propriétés varient suivant la provenance.

Éosine. — On se sert pour les recherches histologiques d'éosine soluble dans l'eau ou primerose et d'éosine soluble dans l'alcool.

Bleu de quinoléine. — Cette substance se trouve dans le commerce. Elle se présente sous la forme de cristaux opaques, verdâtres, métalliques; ce bleu est à peu près insoluble dans l'eau, mais il est soluble dans l'alcool et dans les mélanges d'alcool et d'eau. La potasse et la soude n'altèrent pas la couleur des solutions; l'acide acétique et la plupart des autres acides rendent les solutions du bleu de quinoléine incolores. On peut le conserver en solution alcoolique, et, pour en faire usage, on mélange en proportions variées cette solution avec de l'eau distillée.

Hématoxyline. — L'hématoxyline est une substance définie, cristallisable, qu'on retire du bois de Campêche; elle se présente sous la forme de cristaux ou de masses cristallines légèrement teintées de rose. On l'emploie en solution alcoolique.

Purpurine. — Cette substance, extraite de la garance, se présente sous la forme d'un corps pulvérulent aggloméré comme l'amidon et d'un rouge brique. Elle se dissout à chaud dans une solution aqueuse et concentrée d'alun; mais elle se précipite par le refroidissement, à moins qu'on n'ajoute au mélange filtré à chaud une certaine quantité d'alcool.

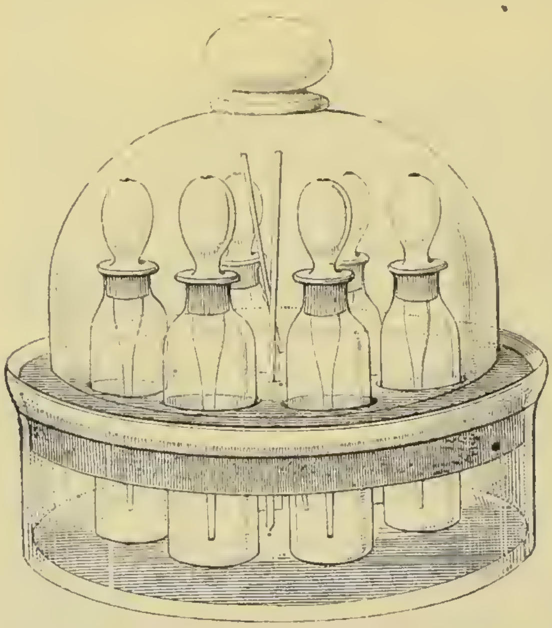


Fig. 58. — Petit appareil contenant les réactifs les plus usuels.

Orcéine.

Carmin d'indigo. — On appelle ainsi le sulfo-indigotate de soude qu'on trouve dans le commerce sous la forme d'une pâte bleue molle, soluble dans l'eau.

Vermillon. — Celui qu'il faut prendre est le vermillon en tablettes qu'emploient les aquarellistes. Il y en a de deux espèces : le vermillon français et anglais, et le vermillon de Chine. Ce dernier contient des parties solides, cristallisées et transparentes, beaucoup plus facilement reconnaissables au microscope que celles de l'autre, et comme c'est pour reconnaître les traces de la matière colorante qu'on l'emploie, il vaut mieux en prendre de cette espèce.

Il n'est pas nécessaire, on le conçoit, d'avoir tous ces réactifs sur la table de travail; mais il y en a quelques-uns des plus usités qu'il faut avoir toujours à la portée de la main pour en disposer sans être obligé de se déranger. C'est l'eau distillée, la glycérine, l'acide acétique, une solution d'iode et une solution carminée. Dans ce but, le mieux est de se servir d'un petit appareil composé de 5 ou 6 petits flacons placés dans un cristallisoir de 12 centimètres environ de diamètre et maintenus par une lame de liège percée de trous dans lesquels ils sont placés (fig. 58); on évite ainsi de les renverser. Ces petits flacons doivent être munis d'un bouchon à pipette qui plonge jusqu'au fond du vase et qui est muni à son extrémité supérieure d'un petit trou pour laisser passer l'air. Avec cette pipette qu'on sort du flacon en mettant le doigt sur le trou, il est très facile de déposer sur la lame une goutte d'un liquide quelconque. Il faut boucher avec de la cire à cacheter le trou de la pipette du flacon de glycérine; autrement celle-ci monte dans la pipette jusqu'à déborder. On couvre cette boîte d'une cloche pour la mettre à l'abri de la poussière.

MÉTHODES GÉNÉRALES

Les méthodes qu'on emploie en histologie pour étudier les tissus sont nombreuses et variées. Elles peuvent différer suivant une série de circonstances et en particulier suivant la nature du tissu que l'on étudie, suivant ses qualités physiques : sa plus ou moins grande dureté, sa transparence, etc.; suivant ses qualités chimiques : son acidité ou son alcalinité; enfin suivant son âge et suivant l'animal.

Chaque tissu est en effet, pour l'histologiste, l'objet d'un problème auquel il applique, d'une part toutes les ressources de son esprit, et de l'autre tous les moyens mécaniques, physiques, chimiques, etc., dont il peut disposer pour arriver à en trouver la solution. Les manières d'étudier un tissu peuvent être variées indéfiniment : non seulement on peut soumettre ce tissu à tous les réactifs durcissants, colorants ou autres que nous allons énumérer, pour en faire des préparations susceptibles de l'observation microscopique; non seulement on pourra injecter de masses colorées les canaux sanguins ou les les canaux excréteurs, changer l'indice de réfraction de certains éléments pour les faire apparaître plus nettement ou les faire disparaître, isoler par des moyens divers les éléments constituants d'un tissu, en un mot faire sur ce tissu mort tous les genres de préparation; mais encore sur l'animal vivant, on pourra produire des modifications, comme par exemple de l'œdème, de l'inflammation, des embolies, et d'autres désordres qui, en exagérant certains phénomènes, en transformant certains éléments, rendront sensibles à l'œil des faits qui ne l'étaient pas à l'état normal.

Des interprétations en histologie. — C'est en effet en variant le plus possible les méthodes d'investigation qu'on arrive à acquérir les notions les plus exactes d'anatomie générale. Lorsque par les méthodes connues et généralement en usage, on n'arrive pas à distinguer nettement sous le microscope, soit la forme, soit la disposition relative des éléments, lorsque différents observateurs voient la même préparation sous différents aspects et sont divisés dans les interprétations qu'ils en donnent, il est inutile de discuter longtemps et d'apporter des arguments pour telle ou telle explication de l'image donnée par le microscope. — La discussion à elle seule indique que la méthode employée est insuffisante, incomplète, puisqu'elle ne donne pas d'images nettes, et la seule chose à faire, c'est de se mettre à la recherche de procédés nouveaux. En effet, si devant une image microscopique, plusieurs histologistes exercés ne sont pas du même avis sur la forme réelle de l'objet qu'elle représente, c'est que cette image n'est pas nette. Par exemple, on a longtemps discuté et l'on discute encore pour savoir si, dans la queue du têtard, les vaisseaux lymphatiques sont, oui ou non, en connexion par leurs extrémités avec les cellules étoilées, d'autres disent les espaces étoilés qu'on y voit. Par les méthodes usitées jusqu'à présent on obtient des préparations

sur lesquelles on peut discuter longuement; les uns voient la connexion avec les cellules, les autres la nient. Le procédé à suivre dans ce cas n'est pas de continuer à faire les mêmes préparations et à les examiner avec une attention soutenue, à discuter toutes les possibilités, à raisonner, comme bien des auteurs l'ont fait, sur la probabilité plus ou moins grande de l'une ou de l'autre hypothèse; la seule chose à faire consiste à chercher une nouvelle méthode, soit des coupes transversales, soit des injections colorées dans les vaisseaux lymphatiques, soit tout autre procédé à l'aide duquel on obtiendra des images nettes et indiscutables.

Citons un autre exemple du même genre, sur lequel nous reviendrons plus tard. Lorsqu'on étudiait le tissu conjonctif presque exclusivement en en faisant des coupes que l'on colorait par le carmin et que l'on traitait par l'acide acétique, on y voyait des cellules étoilées. Des discussions interminables se sont engagées entre les différents histologistes à propos des cellules dites plasmatiques : d'après les uns, c'étaient réellement des cellules creuses anastomosées; d'après les autres, c'étaient des espaces lacunaires reliés par des canaux. En somme, on n'est arrivé à aucun progrès avant l'emploi des nouvelles méthodes. Les injections interstitielles ont, en effet, complètement changé la science sur ce point, comme nous le verrons à propos du tissu conjonctif, et elles ont emporté avec elles la base même de la discussion, les cellules plasmatiques.

Importance des méthodes. — Nous pourrions multiplier ces exemples : montrer comment la méthode de l'imprégnation à l'argent, par exemple, a fait cesser certaines discussions sur la nature de la paroi interne des vaisseaux; comment l'emploi de la platine chauffante a montré que, chez les animaux à sang chaud, les globules blancs sont susceptibles de mouvements amiboïdes comme ceux de la grenouille. Mais nous aurons à revenir sur ces questions à propos de chaque tissu, à mesure que nous les étudierons; nous verrons que c'est, non pas grâce à un génie supérieur ou à une interprétation bien faite que la science se fait ou se modifie sur un point, mais grâce à une nouvelle méthode, grâce à la découverte soit d'une nouvelle matière colorante, soit d'un procédé de durcissement ou d'extension plus parfait. C'est donc de ce côté-là que l'histologiste doit diriger toute son attention; il est absolument nécessaire qu'il connaisse tous les détails des procédés à employer, et qu'il sache la raison de chacun d'eux, afin qu'il puisse les modifier suivant le but particulier qu'il se propose d'atteindre.

L'histologie ne peut, nous le voyons, faire des progrès que par une technique bien connue, bien nette, bien formulée, qui puisse servir de base aux recherches et de point de départ à la découverte de nouvelles méthodes.

A propos de chaque tissu que nous étudierons, nous devrons, d'après cela, décrire les diverses méthodes qui permettent d'en distinguer les éléments et d'en reconnaître la forme; mais, avant d'aborder cette étude détaillée des tissus en particulier qui fera l'objet de la seconde partie de cet ouvrage, nous allons nous occuper des méthodes générales, c'est-à-dire des méthodes qui s'appliquent plus ou moins à tous les tissus, et en particulier des procédés

variés par lesquels on en fait des préparations histologiques, c'est-à-dire par lesquels leur observation au microscope est rendue possible.

Histologie sans microscope. — L'étude de l'anatomie générale s'est faite d'abord sans l'aide du microscope, et Bichat, qu'on peut considérer comme le fondateur de cette science, n'en faisait pas usage. Après lui, on a continué à étudier les tissus à l'œil nu. On était arrivé ainsi à avoir, sans l'emploi du microscope, des notions plus ou moins exactes, mais très incomplètes sur leur nature.

C'est ainsi qu'on avait reconnu dans le tissu cellulaire des fibres et des lames limitant des cavités; on insufflait ce tissu, et on observait la forme que prenaient ses mailles. On y injectait des liquides qu'on faisait geler; on en séparait les petits glaçons et on concluait de leur dimension et de leur forme à celle des cavités du tissu.

On savait que le tissu adipeux contenait de la graisse; en l'écrasant sur un papier, il y faisait une tache qui ne séchait pas; mais on croyait que cette graisse était simplement déposée dans la trame du tissu conjonctif, comme la sérosité ou un liquide injecté.

Dans les tendons, on avait constaté l'existence de fibres; dans les os, celle de petits pertuis et de lacunes plus considérables; on avait reconnu un tissu mou à l'intérieur, et autour une membrane spéciale, le périoste, dont on connaissait, entre autres propriétés, celle de régénérer l'os. Mais au delà on était impuissant, on ne savait si l'os était composé de lames ou de fibres; comme les os longs se laissaient cliver dans leur longueur et non pas en travers, on admettait cependant des fibres longitudinales.

Des cartilages, on ne connaissait guère que leur transparence, leur élasticité spéciale. On ne soupçonnait pas dans leur intérieur d'éléments cellulaires; on discutait leur vitalité.

On connaissait la constitution fibrillaire des muscles; mais on ne pouvait avoir la notion des faisceaux primitifs.

On n'avait sur la structure des nerfs que des données bien insuffisantes, et Bichat lui-même croyait qu'ils étaient formés par une enveloppe membraneuse contenant une substance qu'il appelait la moelle nerveuse, et qui s'y trouvait renfermée comme le sang dans les vaisseaux.

Le sang était simplement un liquide coloré; cependant, même avant l'emploi du microscope, on aurait pu savoir qu'il contenait des parties solides puisqu'au sortir des vaisseaux il est opaque, et que l'addition d'eau le rend transparent. L'eau devait donc dissoudre des parties solides qui le rendaient opaque tout d'abord.

Nécessité de l'examen à l'œil nu. — On avait donc, avant l'application du microscope à l'étude des tissus, des notions plus ou moins exactes sur leur constitution élémentaire. Aujourd'hui, l'emploi de cet instrument a fait faire des progrès immenses à l'histologie, et nous avons des notions déjà très étendues sur la constitution des éléments de l'organisme. Cependant l'étude des tissus à l'œil nu ne doit pas être négligée. Même dans des préparations spécialement faites pour le microscope, il y a des détails qui s'appré-

cient à l'œil nu. C'est ainsi que, si l'on examine à contre-jour une lamelle d'os assez mince pour être transparente, on y aperçoit les canaux de Havers, et, si la pièce a été colorée auparavant de certaine façon, on peut même y distinguer le trajet et la distribution de ces canaux.

Conditions de l'examen au microscope. — Cet examen à l'œil nu ne doit être, on le conçoit aisément, qu'une étude préalable. L'étude d'une préparation histologique quelconque n'est sérieuse et complète que lorsque cette préparation a été examinée au microscope avec de bons objectifs et sous des grossissements variés. Ces observations ne peuvent se faire avec exactitude qu'à la lumière transmise, la seule qui permette de pénétrer, en abaissant plus ou moins l'objectif, dans l'intérieur de la préparation et de se rendre compte de la forme, de la dimension et de la position relative des éléments qu'elle contient. Il est donc nécessaire que les préparations soient transparentes, c'est-à-dire qu'elles laissent passer la lumière, et pour cela, la première condition c'est que les fragments de tissus soient très petits où très minces. De plus, il y a des parties qui, malgré leur minceur, restent plus ou moins opaques, et, pour les rendre transparentes, il faut les soumettre à l'action de liquides appropriés. Pour bien distinguer dans les tissus certains éléments, il est souvent opportun d'en faire disparaître d'autres qui leur sont interposés et qui empêchent de les bien voir. On a recours pour cela à l'action de réactifs qui augmentent la réfringence de quelques-uns d'entre eux et les rendent plus visibles, tandis qu'ils réduisent celle des autres à l'indice de réfraction du milieu où ils se trouvent et les rendent par conséquent invisibles. Enfin, en soumettant méthodiquement les tissus à l'action de certaines matières colorantes, on obtient des préparations où quelques parties seules sont colorées, et où elles deviennent dès lors bien visibles et distinctes des autres.

Les méthodes générales, c'est-à-dire les procédés divers par le moyen desquels on fait subir aux tissus ou aux organes les modifications nécessaires pour les rendre propres à l'examen microscopique, peuvent se diviser en sept groupes principaux :

Les Méthodes a employer pour l'étude des éléments qui, a l'état normal, flottent dans un liquide;

Les Méthodes pour tendre les filaments, pour étendre et développer les membranes;

Les Méthodes de dissociation et de dissection;

Les Méthodes pour faire les coupes;

Les Méthodes de coloration et d'imprégnation, et les procédés pour augmenter la transparence des objets;

Les Méthodes pour injecter les vaisseaux et les conduits glandulaires;

Les Méthodes pour la conservation des préparations.

CHAPITRE IV

MÉTHODES POUR L'ÉTUDE DES ÉLÉMENTS QUI, A L'ÉTAT NORMAL, FLOTTENT DANS UN LIQUIDE

Pour étudier les éléments qui sont contenus dans un liquide (par exemple le sang, la lymphe, le pus, les urines, la salive, le mucus nasal, etc.), on recueille une goutte du liquide que l'on place sur la lame et que l'on recouvre de la lamelle. Il n'est pas indifférent de prendre une quantité plus ou moins considérable de liquide; si l'on en met trop peu pour l'espace limité par la lamelle, l'attraction moléculaire occasionne une pression tellement forte, que les éléments délicats peuvent être écrasés. C'est pour cela qu'il faut que le liquide soit en quantité suffisante pour remplir tout l'espace capillaire; il vaut même mieux qu'il aille jusqu'à faire de petites bordures sur les bords de la lamelle. Pour éviter la pression exercée par la lamelle, il convient souvent de supporter cette dernière à l'aide de bandes de papier mince.

Liquides additionnels. — Dans certains liquides, les éléments sont rares, et il est alors facile de les étudier sans rien y ajouter. D'autres fois les éléments sont au contraire si nombreux, qu'ils forment une masse où il est difficile de les reconnaître et de les étudier. Il faut alors employer des liquides additionnels pour les séparer. Quels sont les liquides additionnels qu'il faut choisir? Il n'en est pas un seul qui convienne dans tous les cas. Chaque élément vit, en effet, dans un plasma spécial, et il faut autant que possible que le liquide additionnel possède les propriétés de ce plasma. Par exemple, les globules rouges du sang vivent dans le plasma sanguin qui contient des substances colloïdes, l'albumine et la substance fibrinogène, des substances cristalloïdes, comme le chlorure de sodium et les autres sels du sang; si on les examinait dans un liquide qui présentât une autre proportion entre les substances colloïdes et cristalloïdes, il se produirait des phénomènes de diffusion par suite desquels les globules arriveraient à se ratatiner ou à se gonfler.

Le mieux est donc de prendre du sérum sanguin pour liquide additionnel, quand on veut étudier les globules du sang. Pour cela, on enlève le sang d'un animal; on le laisse coaguler, et l'on décante le sérum. Ce liquide ne se conserve pas; au bout de peu de temps, il subit des modifications considérables qui en altèrent complètement la nature au point de vue histologique et chimique.

Pour obvier à cet inconvénient, on peut y mettre, à l'exemple de M. Schultze, un petit morceau de camphre. Ce moyen ne suffit pas; avec le camphre seul, on n'arrive pas à conserver du sérum d'une façon durable. L'iode atteint, il est vrai, ce but; mais le sérum iodé, c'est-à-dire additionné d'un peu d'iode, ne peut pas être considéré comme un liquide indifférent; il a, au contraire,

comme on le verra plus loin, une action considérable sur les éléments.

On peut aussi employer comme liquides additionnels d'autres liquides organiques : l'humeur aqueuse, le corps vitré, la salive, l'albumine de l'œuf, etc.

La solution de chlorure de sodium à 7 pour 1000, que l'on désigne souvent sous le nom de solution de sel à la dose physiologique, constitue un milieu dans lequel les éléments vivants peuvent être conservés un certain temps. Notons enfin les sérums artificiels.

C'est surtout pour l'étude des éléments qui flottent dans un liquide que l'on emploie la platine chauffante, la chambre humide et la chambre à gaz.

CHAPITRE V

MÉTHODES POUR TENDRE LES FILAMENTS, POUR ETENDRE ET DÉVELOPPER LES MEMBRANES

Filaments. — Il y a des filaments qui ne sont pas élastiques ni rétractiles à l'état physiologique : ainsi les tendons fléchisseurs des doigts de la grenouille, les tendons de la queue des rongeurs, conservent leur longueur naturelle, quand on les a extraits; mais si l'on fait agir sur eux certains réactifs, ils reviennent sur eux-mêmes. Avant de les y soumettre, il faut donc les maintenir en extension. Pour cela, il suffit de les placer sur une lame de verre et d'en fixer les deux extrémités, soit avec de la cire à cacheter, soit avec de la paraffine. On en dépose une goutte à chaque extrémité du tendon avec une baguette de fer, préalablement chauffée. Quand le tendon est ainsi fixé à ses extrémités, on peut faire agir sur lui des réactifs chimiques sans craindre qu'il vienne à se rétracter.

Pour tendre les filaments rétractiles, par exemple un faisceau musculaire ou un petit muscle, il faut prendre plus de précautions. Le procédé le plus simple consiste à l'étaler sur une lame de verre et à le recouvrir d'une lamelle dont le diamètre soit inférieur à sa longueur. On peut prendre l'une de ses extrémités que l'on replie par-dessus la lamelle et on la fixe avec de la paraffine; cela fait, on tire légèrement sur l'autre extrémité avec une pince, on la replie sur la lamelle que l'on fixe de la même façon. On opérerait de même sur un petit muscle plat.

On peut aussi, pour conserver des filaments en extension, combiner les moyens mécaniques et les moyens chimiques. Il y a des réactifs, par exemple, qui fixent les faisceaux musculaires tels qu'ils sont au moment de leur action. Il suffit donc de les maintenir tendus pendant qu'on les expose à l'action de ces réactifs, pour être assuré qu'ils resteront ensuite dans l'extension. Pour cela, on prend par exemple un faisceau musculaire; on en

fixe une extrémité en la liant avec un fil sur une petite tige de bois, on étend ce faisceau en tirant avec une pince l'autre extrémité, que l'on attache de la même façon; puis cette petite tige est plongée, avec le fragment musculaire qui y est attaché, dans un des réactifs qui enlèvent au muscle sa rétractilité. Ces réactifs sont, en première ligne : l'acide osmique à 1 pour 100, l'acide chromique à 1 ou 2 pour 1000; le bichromate de potasse ou d'ammoniaque à 2 pour 100; l'alcool à 90°; l'alcool à 90° avec deux parties d'eau: l'acide picrique en solution saturée.

Membranes. — Presque toutes les membranes sont rétractiles; une fois détachées, elles reviennent sur elles-mêmes, et dans cet état il serait impossible d'en distinguer nettement les éléments. Il est indispensable de les observer à un degré de tension voisin de celui qu'elles ont normalement dans l'organisme. Il y a pour cela deux sortes de procédés : des procédés mécaniques et des procédés chimiques.

Pour donner une notion des procédés mécaniques à employer, prenons par exemple le mésentère. On fait passer une partie de cette membrane sur la lame de verre, et, après y avoir mis le liquide conservateur, on applique la lamelle sur la partie qui doit entrer dans la préparation; on coupe ensuite la membrane de manière qu'il en reste tout autour de la lamelle. Les portions qui la dépassent sont alors repliées sur ces bords comme un ourlet; il suffit de tirer sur l'un d'eux, les autres étant fixés par l'opération précédente, pour obtenir un premier degré d'extension qui sera maintenu en repliant de nouveau le bord sur lequel on a tiré. On pourra agir successivement de la même façon sur chacun des côtés de la lamelle, et lorsque la membrane sera suffisamment étendue, la préparation sera lutée avec de la paraffine.

Un autre procédé que nous employons pour avoir une extension complète est le suivant : un fragment de mésentère est étendu et coupé de manière à dépasser les bords de la lamelle qu'on y applique; on a soin de ne pas mettre assez de liquide additionnel pour qu'il déborde, et quand la partie du mésentère qui n'est pas recouverte par la lamelle de verre a séché un peu, on borde la préparation avec de la paraffine. Puis, la membrane étant ainsi fixée, on enlève la bordure d'un des côtés, et avec les doigts on tire sur le bord du tissu qui est de ce côté, de manière à tendre la membrane à un degré convenable. On la maintient et on la fixe dans cette position en mettant une nouvelle bordure de paraffine. En agissant de la même façon successivement pour chacun des côtés de la préparation, on arrive à avoir une membrane bien tendue.

Il est une troisième méthode qui donne, dans la plupart des cas, d'aussi bons résultats et qui est d'une application plus facile. Elle consiste à étendre sur une lame de verre une membrane à l'aide des doigts appliqués sur ses bords. Tant que la membrane est humide, elle se rétracte du moment qu'on l'abandonne à elle-même. Mais lorsqu'elle commence à sécher (et par suite de la chaleur des doigts qui la tendent, elle sèche plus vite sur les bords), ses bords restent adhérents au verre, et en l'attirant successivement sur ses

différents côtés, on arrive à la tendre d'une façon très complète. Nous donnerons à cette méthode, dont nous faisons un usage fréquent, le nom de *demi-dessiccation*.

On peut aussi tendre une membrane sur les bords d'un petit vase comme une peau de tambour, ou encore l'étendre avec des épingles sur une plaque de liège, pour l'exposer à l'action des réactifs, l'alcool, l'acide picrique ou l'acide chromique, ou simplement pour la dessécher.

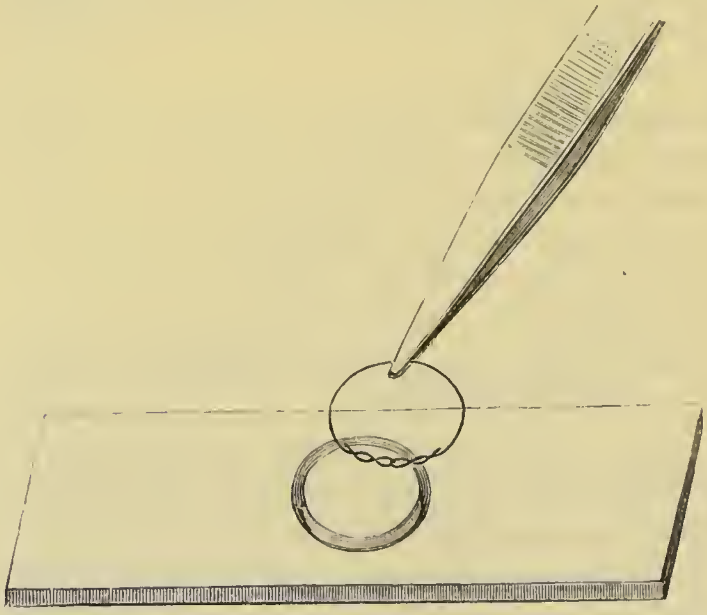


Fig. 59. — Pour montrer comment on fixe une membrane sur le disque de la chambre humide avec un anneau de platine.

Pour observer une membrane vivante à l'état d'extension, la modifier par des courants électriques, en fixer les éléments au moyen de l'acide osmique, on emploiera avec avantage la méthode suivante[1] :

Après avoir détaché la membrane, on l'étend sur le disque de la chambre humide décrite page 58, en dirigeant en haut la face de la membrane que l'on veut observer. Pendant cette opération, il faudra éviter la dessiccation des tissus en les humectant avec l'humeur aqueuse de l'animal qui les a fournis, ou avec du sérum du sang ou de l'eau salée à la dose physiologique. La membrane est maintenue en extension, au moyen d'un anneau de platine qui la fixe sur le disque de la chambre humide. Il faut que l'anneau, que l'on construit soi-même avec un fil de platine, ait un diamètre légèrement supérieur à celui du disque, puisque la membrane doit être prise entre le disque et l'anneau. On recouvre d'une lamelle de verre que l'on fixe avec de la paraffine.

Si, après avoir examiné certains éléments, on enlève la lamelle de verre, la membrane reste en place, grâce à l'anneau de platine qui la maintient. On peut alors faire agir des réactifs et retrouver ensuite, sans difficulté, les éléments modifiés par leur action.

Ayant reconnu dans la membrane un élément ou un groupe d'éléments qu'on veut soumettre à l'action des courants électriques, il suffira, pour y arriver, d'enlever la lamelle et d'appliquer sur la membrane deux bandes de papier d'étain qui doivent servir d'électrodes et qui, par conséquent, seront disposées de telle sorte qu'entre les deux extrémités il reste un petit espace dans lequel seront compris les éléments sur lesquels on se pro-

1. Des vacuoles des cellules calciformes, des mouvements de ces vacuoles et des phénomènes intimes de la sécrétion du mucus (Acad. des sciences, *Comptes rendus*. 1887).

pose d'agir. On replace ensuite la lamelle et on la borde avec de la paraffine. Cet enduit convient d'autant mieux que la paraffine est, comme on le sait, un isolateur excellent.

CHAPITRE VI

MÉTHODES DE DISSOCIATION ET DE DISSECTION

Pour étudier les éléments de certains tissus, il est nécessaire de les écarter et de les isoler les uns des autres, soit par des moyens mécaniques, soit par des moyens chimiques, soit par la combinaison de ces deux espèces de moyens.

Dissociation avec les aiguilles. — Lorsqu'il s'agit de séparer à l'aide des aiguilles les parties élémentaires d'un tissu, il se présente des difficultés de divers ordres. Il est nécessaire, en premier lieu, de voir très nettement l'objet, ce qui n'est pas toujours facile; en second lieu, il faut posséder sur la structure du tissu que l'on veut dissocier quelques notions élémentaires préalables, afin de ne pas appliquer les aiguilles au hasard, ce qui pourrait, ou bien empêcher de séparer les éléments, ou bien altérer les parties que l'on veut examiner.

Si la dissociation se fait à l'œil nu à l'aide d'une simple loupe ou avec la loupe de Brücke, il faut avoir soin de se mettre dans le meilleur jour; mais cette précaution ne suffit pas. Si la lame de verre sur laquelle est placé le fragment de tissu repose directement sur la table de travail, il peut se faire qu'on ne le distingue pas nettement; aussi faut-il choisir un fond approprié : noir si les tissus sont incolores, blanc si les tissus sont colorés. Lorsqu'ils sont colorés et sur fond blanc, on ne les distingue pas encore nettement parce que les ombres projetées se confondent avec l'image de l'objet et en altèrent la netteté. Pour éviter cet inconvénient, l'observateur, au lieu de poser directement la lame de verre sur la table ou sur une feuille de papier, peut la faire reposer sur les bords d'un petit baquet de porcelaine, de manière que le fond soit distant de l'objet et que l'ombre projetée obliquement ne se confonde plus avec l'image de cet objet.

Photophore. — Nous nous servons dans notre laboratoire d'un *photophore* qui réunit les différentes conditions nécessaires pour dissocier avec avantage à l'œil nu ou avec la loupe de Brücke. Il se compose d'une petite caisse de bois d'environ 5 centimètres de haut, sur 10 à 12 centimètres de long et de large.

La paroi antérieure de cette caisse est enlevée, et sa paroi supérieure est formée d'une lame de glace; on y dispose un miroir incliné de manière à renvoyer directement de bas en haut les rayons lumineux. Sur la plaque de

verre qui recouvre la caisse, on place la lame où se trouve la préparation et on l'éclaire aussi bien que possible.

Pour voir bien nettement les objets colorés, il suffit de placer sur le miroir une feuille de papier blanc; les objets se détachent admirablement sur ce fond, et leur ombre, réfléchie obliquement et en arrière de la préparation, ne vient pas nuire à la netteté de l'image.

Quand on opère sur des objets incolores, on remplace l'écran blanc par un écran noir sur lequel toutes leurs parties se détachent avec netteté.

Dissociation sous le microscope. — Lorsque les éléments qu'on se propose de séparer et d'isoler sont trop petits pour être visibles à l'œil nu ou à la loupe de Brücke, il devient nécessaire de se servir du microscope. On peut alors procéder de deux façons : ou bien placer la préparation sous le microscope, la considérer attentivement avec un faible grossissement, de manière à se rendre bien compte de la façon dont est situé l'objet à isoler par rapport à des parties de tissu assez étendues pour être visibles à l'œil nu; puis retirer la préparation de la platine, et, en la plaçant sur le photophore, la dissocier avec les aiguilles en déterminant approximativement le point où se trouve l'objet que l'on veut isoler. Ce procédé est sujet à bien des chances d'insuccès, et cela se comprend; cependant, il donne, entre des mains exercées, d'assez bons résultats. L'autre procédé consiste à disséquer et à isoler les éléments directement sous le microscope. On a alors à vaincre deux difficultés : la première est la dimension considérable que prend l'image des aiguilles; la seconde, c'est le renversement de l'image, par suite duquel on croit porter l'aiguille à droite quand on la porte à gauche, et réciproquement. Avec un peu d'exercice, cet inconvénient est moindre qu'il ne paraît au premier abord. Du reste, on a inventé, pour y obvier des prismes redresseurs.

Il convient d'indiquer encore un procédé avantageux pour terminer l'isolation d'une cellule nerveuse. Il consiste à laisser tomber sur l'endroit où elle se trouve une goutte de liquide. Ce liquide écarte les fibrilles et les petits objets voisins, et souvent, par ce procédé, nous avons obtenu, libre et isolée, une cellule nerveuse que nous n'aurions séparée avec les aiguilles qu'en sacrifiant un ou plusieurs de ses prolongements.

Manière d'appliquer les aiguilles. — En second lieu, avons-nous dit, avant d'employer les aiguilles pour dissocier un tissu, il est indispensable d'avoir quelques notions sur sa structure. Il importe, en effet, de savoir comment les éléments y sont disposés, s'ils sont parallèles ou entre-croisés et d'agir dans la direction où l'on obtiendra le plus facilement leur séparation.

Ainsi, avant de procéder à la dissociation des muscles, il est essentiel de savoir qu'ils sont composés de fibres parallèles et de se rendre compte du sens dans lequel elles sont dirigées. On y applique les aiguilles de manière à produire une fente de dissociation que l'on augmente jusqu'à diviser l'objet en deux. Puis, sur une des moitiés, on répète l'opération en plaçant toujours les aiguilles au même bout du fragment musculaire, et en les employant pour le diviser en filaments de plus en plus fins. Les aiguilles doivent être

appliquées toujours à la même extrémité du faisceau, parce que les fibres musculaires sont si délicates, que tous les points touchés directement sont détériorés et ne peuvent plus servir à une bonne observation. En opérant comme nous venons de l'indiquer, on arrive à isoler les faisceaux primitifs sans en altérer autre chose qu'une de leurs extrémités.

Pour dissocier les nerfs, il est nécessaire de savoir qu'ils sont composés de tubes parallèles, que les faisceaux nerveux sont entourés d'une gaine résistante et qu'on ne peut séparer les tubes dont ils sont composés qu'après avoir enlevé cette gaine.

Demi-dessiccation. — Lorsque les éléments sont entre-croisés, comme dans le tissu conjonctif par exemple, il survient une nouvelle difficulté. Si les aiguilles sont appliquées dans un sens, le tissu se laisse étirer dans cette direction; mais lorsqu'on les applique dans une direction perpendiculaire à la première, il se laisse étendre dans cette nouvelle direction, et revient sur lui-même dans l'autre. Le meilleur moyen d'obvier à cette difficulté consiste à placer le tissu sur la lame de verre sans liquide et de l'étendre modérément. Il se dessèche peu à peu, et les parties à demi desséchées adhèrent assez à la lame pour résister à la traction. Il faut opérer rapidement et terminer avant que la dessiccation ne soit trop avancée.

Dissociation par agitation dans les liquides. — Lorsque, après l'action de certains réactifs dissociateurs, les éléments d'un tissu sont unis faiblement les uns aux autres, il est facile de les dissocier sans y toucher. Le tissu est mis, avec de l'eau, dans un tube à analyse que l'on agite en le bouchant avec la pulpe du pouce; les cellules se détachent et une goutte du liquide, prise au fond du tube, en contient un grand nombre.

Une méthode analogue consiste à placer un petit fragment du tissu sur une lame de verre avec une goutte d'eau. On incline la lame d'environ 20 degrés, de manière que l'eau se rassemble un peu au-dessous du fragment, mais pas assez pour qu'elle s'écoule, et avec une aiguille on agite l'objet, de manière à en détacher quelques cellules. Ces cellules, une fois séparées, gagnent la partie déclive, parce qu'elles sont plus lourdes que l'eau, et dès lors elles ne sont plus exposées à être détériorées par l'aiguille.

Méthode des injections interstitielles. — Lorsqu'un tissu est constitué par des filaments intriqués, on réussit, à l'aide des injections interstitielles, à les écarter de manière à les voir nettement. On se sert, pour cela, d'une seringue hypodermique montée soit en argent, soit en caoutchouc durci, et munie d'une canule à extrémité piquante. On peut injecter de l'eau, du sérum, des matières colorantes, du nitrate d'argent ou des substances qui se solidifient par le refroidissement.

Si l'on injecte de l'eau ou un liquide analogue dans le tissu conjonctif sous-cutané, quelques-unes des fibres sont simplement écartées pour faire place au liquide, d'autres sont refoulées, et il se forme ainsi une cavité, une sorte de boule d'œdème dont le centre est occupé par des fibres plus ou moins éloignées les unes des autres, et entre lesquelles se trouve la plus grande partie du liquide injecté. A la périphérie de cette boule, les fibres,

refoulées par le liquide, se pressent les unes contre les autres et forment comme une membrane d'enveloppe. Alors, avec des ciseaux courbes, d'un premier coup on met le centre de la boule à découvert, d'un second coup on enlève une petite portion du tissu œdémateux, on l'étale sur la lame et l'on recouvre. Il est nécessaire de faire toutes ces manœuvres rapidement; autrement, le liquide s'écoule, les éléments écartés reviennent sur eux-mêmes, et l'injection n'a produit aucun effet utile. Il faut donc préparer, avant de procéder à l'injection, une lame et une lamelle bien nettoyées, avoir sous la main ses instruments, de manière à disposer le tissu sur la lame et à appliquer la lamelle immédiatement. Lorsque la lamelle est placée, la capillarité la fixe et empêche les parties de se déplacer.

Quand on injecte de la gélatine tiède, on peut aller lentement. Elle se solidifie par le refroidissement et maintient les éléments dans la situation que leur a donnée l'injection.

Il y a certains agents qui, conservant ou même augmentant la solidité de quelques éléments, ramollisent ou dissolvent les autres, de telle sorte que les premiers peuvent ensuite être facilement séparés.

Altération cadavérique. — Au nombre des réactions dont nous voulons parler, se rangent les premières modifications chimiques qui se passent au sein des tissus après la mort. Lorsque, par exemple, on expose à l'air la muqueuse intestinale d'un animal que l'on vient de sacrifier, les cellules épithéliales s'en détachent avec la plus grande facilité.

Tissus abandonnés à eux-mêmes en vase clos. — Un procédé analogue consiste à abandonner les tissus à eux-mêmes dans un espace clos. L'organe est mis dans un petit baquet, sur une lame de glace dépolie et recouverte d'une cloche rodée. A côté du baquet est placé un petit morceau de camphre ou du papier à filtrer trempé dans de l'acide phénique à 1 pour 10. Si l'on a pris le tissu frais, il peut rester ainsi plusieurs jours sans se putréfier; mais il faut pour cela qu'il ne contienne pas de germes de putréfaction, des bactéries par exemple. Les tissus ainsi conservés subissent une sorte de macération qui rend les éléments plus facilement isolables.

Ce procédé est surtout utile pour l'étude des tumeurs. Ainsi, bien que les épithéliums soient composés de cellules, ces cellules sont unies si solidement les unes aux autres, qu'il est très difficile d'en détacher à l'état frais. Si on abandonne la tumeur sous une cloche, comme nous venons de le dire, on réussit, au bout de vingt-quatre heures, à obtenir isolées un grand nombre des cellules qui la composent.

Certains réactifs liquides donnent pour la dissociation de fort heureux résultats.

Sérum iodé. — Ce réactif, imaginé par Max Schultze[1], a rendu de grands services. Pour le fabriquer, on prend soit du sérum du sang ou de l'amnios,

1. *M. Schultze.* Die Anwendung mit Iod conservirter thierischer Flüssigkeiten als macerirendes und conservirendes Mittel bei histologischen Untersuchungen (*Virchow's Archiv.*, 1864, vol. XXX, p. 263).

soit un sérum fait avec du blanc d'œuf, de l'eau et du sel marin. Il n'y a que le sérum fabriqué avec l'eau de l'amnios des ruminants qui présente des avantages sérieux[1]. Ce liquide est recueilli à l'état frais dans un flacon au fond duquel on ajoute des paillettes d'iode. Il faut agiter tous les jours le mélange, ou retourner le flacon, pour que l'iode diffuse dans toute la masse; autrement il ne s'en trouverait que dans les couches profondes du liquide, et à sa partie supérieure se formeraient des micrococcus et des bactéries.

Un bon procédé pour obtenir du sérum iodé consiste à le préparer dans un flacon large et à fond plat, de telle sorte qu'au-dessus des paillettes d'iode il n'y ait qu'une couche de sérum de 2 ou 3 centimètres. Il est à remarquer qu'au début, l'iode se dissout très lentement dans le sérum; mais plus tard il se transforme partiellement en iodures qui déterminent la dissolution de nouvelles quantités d'iode et, par suite, le sérum devient de plus en plus foncé. Ce sérum fortement iodé peut être employé pour ioder le sérum frais.

Il est nécessaire d'avoir dans un laboratoire du sérum fortement iodé et du sérum faiblement iodé.

Pour déterminer l'action dissociatrice du sérum iodé sur un tissu, il faut en prendre un fragment très petit, inférieur, par exemple, au volume d'un pois, et le placer dans un flacon bien bouché avec 4 ou 5 centimètres cubes de sérum faiblement iodé; généralement dès le lendemain, on peut en pratiquer la dissociation par les moyens mécaniques indiqués plus haut. S'il n'est pas encore assez macéré, il faut prolonger son séjour dans le sérum iodé; mais on remarque que dès le second jour ce sérum est tout à fait décoloré, c'est-à-dire que le tissu a absorbé tout l'iode libre qu'il contenait, et si on laissait les choses en l'état la putréfaction ne tarderait pas à survenir. Pour l'empêcher, on ajoute quelques gouttes de sérum fortement iodé jusqu'à ce que le liquide ait repris une coloration brune légère. Le séjour du tissu dans le sérum peut être prolongé pendant plusieurs semaines sans que la putréfaction survienne, si l'on ajoute du sérum iodé chaque fois que le liquide se décolore. C'est l'addition successive de nouvelles quantités d'iode qui constitue la clef de cette méthode de dissociation.

Frey a préconisé le sérum artificiel suivant :

Eau distillée	135 grammes.
Albumine de l'œuf	15
Chlorure de sodium	0gr,20

Mélangez, filtrez, et ajoutez :

Teinture d'iode	3 grammes.

Le mélange est filtré de nouveau sur de la flanelle, et on ajoute au fond

1. Pour se procurer de l'eau de l'amnios, on va dans un abattoir de Paris demander des *gosselins* de bœuf ou de mouton (c'est le nom sous lequel est connu l'utérus gravide). Une incision comprenant la paroi utérine et les membranes donne issue à un jet de sérum que l'on reçoit dans un flacon muni d'un entonnoir. Ce liquide doit être parfaitement limpide et d'un jaune citrin.

du vase quelques paillettes d'iode. Nous n'avons jamais réussi à obtenir par ce procédé un sérum iodé convenable.

Alcool au tiers. — D'autres réactifs dissocient les tissus en ramollissant certains éléments, tandis qu'ils rendent les autres plus solides. Ainsi un mélange d'une partie d'alcool à 90° et de deux parties d'eau distillée constitue un réactif dissociateur excellent. C'est ce réactif que j'ai désigné sous le nom d'alcool au tiers.

Acide chromique dilué. — A la dose de 2 à 3 pour 10 000, cet acide a été recommandé par Max Schultze[1], comme réactif dissociateur. Il a été employé par Deiters dans ses belles recherches sur les centres nerveux.

Bichromate de potasse dilué. — Il s'emploie à des doses dix fois plus considérables, à 2 et 3 pour 1000.

Potasse et soude. — Ces alcalis en solutions fortes, de 35 à 50 pour 100 (Moleschott), dissolvent la substance intercellulaire en ne modifiant que légèrement la forme des cellules, ce qui permet d'isoler ces dernières. A dose plus faible, même lorsqu'ils sont très dilués, ils détruisent les cellules. Les éléments cellulaires cornés font seuls exception.

Acide sulfurique. — Concentré et à chaud, ce réactif peut être employé pour isoler les cellules des parties cornées, des poils, des ongles, etc.

Pour isoler les fibres du cristallin, M. Schultze place cet organe dans 30 grammes d'eau additionnée de 4 ou 5 gouttes d'acide sulfurique concentré. Vingt-quatre heures après, il suffit d'agiter un fragment du cristallin dans le liquide pour le voir se décomposer en ses éléments constituants.

Acide azotique. — On se sert de l'acide azotique à la dose de 20 pour 100 pour isoler les fibres musculaires.

Un petit fragment d'organe qu'on suppose contenir des fibres musculaires lisses, placé dans 5 à 10 centimètres cubes de ce réactif, se laisse, au bout de dix-huit à vingt heures, dissocier avec la plus grande facilité au moyen des aiguilles.

Réactifs divers. — Plusieurs auteurs ont essayé de combiner l'action de divers réactifs avec celle de la chaleur.

Ludwig[2] a proposé, pour dissocier les éléments glandulaires du rein, de chauffer des fragments de cet organe pendant six à huit heures dans de l'alcool à 40 pour 100, auquel on ajoute 1 pour 500 ou 1 pour 400 d'acide chlorhydrique concentré. Ils sont ensuite mis à macérer dans l'eau distillée pendant plusieurs jours, jusqu'à ce que, par l'action la plus légère des aiguilles, on arrive à séparer les tubes urinifères.

Rollett a employé, dans le même but, la coction en vase clos. Le tissu est mis avec un peu d'eau dans un tube scellé à la lampe que l'on chauffe jusqu'à 125 ou 130 degrés dans un bain de sable. Tous les éléments collagènes se transforment en gélatine; le tube est alors brisé dans l'eau chaude, qui dissout la gélatine et permet la séparation des autres éléments.

1. *M. Schultze*, Untersuchungen über den Bau der Nasenchleimhaut, etc. Halle, 1862.
2. *C. Ludwig*, von der Niere. (*Stricker's Handbuch*, p. 506.)

Compression. — Nous ne citerons que pour mémoire ce moyen de dissociation à peu près abandonné par les histologistes, et qui était souvent employé autrefois par les zoologistes. En général, la compression est plutôt à éviter.

Ce procédé consiste à établir une pression plus ou moins forte sur la lamelle qui recouvre la préparation. Ce moyen a joui d'une assez grande faveur pour qu'on ait inventé des compresseurs divers. Ils ne sont presque plus employés.

CHAPITRE VII

MÉTHODES POUR FAIRE LES COUPES MICROSCOPIQUES

Les objets qu'on examine au microscope à la lumière transmise doivent être translucides et n'avoir qu'une faible épaisseur. S'ils ne sont pas minces comme certaines membranes, il faut les diviser en tranches, en un mot, y pratiquer des *coupes microscopiques.*

Certains tissus, les cartilages par exemple, sont assez fermes pour que l'on puisse y faire des coupes sans les soumettre à aucun traitement préalable. Mais la plupart des tissus étant beaucoup trop mous pour que l'on puisse commodément y faire des coupes, il est nécessaire d'augmenter leur consistance au moyen de réactifs durcissants ou de la congélation.

D'autres tissus au contraire, comme les os ou les dents, sont trop durs à l'état normal pour que le rasoir puisse les entamer; si l'on arrive à en détacher un copeau mince au moyen d'un scalpel à trempe très dure, ce copeau fragile s'écaille et se fendille en même temps qu'il se sépare, et au lieu d'une lame homogène, on n'obtient qu'une masse inégale où les éléments se confondent avec les fentes de la préparation et l'air interposé. Pour faire des coupes de ces tissus, il faut, avant de les attaquer avec le rasoir, les ramollir à l'aide de réactifs décalcificateurs ou bien on en détache des lames par un autre procédé que nous indiquerons un peu plus loin.

Nous aurons donc à traiter, dans ce chapitre, des coupes des tissus sans traitement préalable; des différents procédés pour durcir suffisamment les tissus mous et pour y pratiquer des coupes.

Coupes des tissus cornés et des cartilages. — Les tissus cornés peuvent être plus ou moins durs; parmi les plus durs, il faut compter les ongles et les cornes. Pour en faire des coupes, on emploie un scalpel ou un rasoir à tranchant solide; si l'objet est trop petit pour être tenu à la main, il doit être placé dans une fente pratiquée dans un bouchon de liège.

Les cartilages se rangent aussi parmi les tissus dont on peut faire des coupes sans les avoir soumis à aucune préparation. Ces coupes se font soit

à sec, comme les précédentes, soit en mouillant le rasoir avec de l'eau, pour leur permettre de glisser sur la surface de la lame dans la mince couche de liquide qui s'y trouve.

Coupes des parenchymes. — Il est plus difficile de faire des coupes des tissus parenchymateux complètement frais, parce que leur mollesse ne permet pas de les maintenir solidement, et parce que les éléments qui les composent glissent facilement les uns sur les autres. Avec un peu d'exercice, on peut cependant arriver à en faire des coupes. Après avoir mouillé le rasoir, que l'on a soin de tenir bien horizontalement, on pratique un premier avivement hardiment et tout d'un trait, puis on fait la seconde section; mais le plus léger mouvement des doigts qui tiennent la pièce change le rapport des parties, et le plus souvent la deuxième surface de section est irrégulière.

Si l'on ne réussit pas à faire ces coupes avec un rasoir, on peut se servir du couteau double de Valentin. Après avoir donné aux deux lames un écartement convenable, on enfonce cet instrument dans l'organe, comme si on voulait le diviser avec une lame simple; puis on lui imprime une légère torsion afin de dégager la coupe que l'on a faite et que l'on retrouve en écartant les deux lames du couteau.

Coupes des os. — Les coupes des os se font avec la scie. A cet effet, le morceau d'os est pincé dans dans un étau, et par une première section, on affranchit une surface bien plane. Puis on fait une seconde section parallèle à la première, de manière à dégager une lame osseuse d'une épaisseur d'un millimètre au maximum. Pour cela, appuyant l'ongle à l'endroit choisi, on donne un premier trait de scie; puis on continue à scier verticalement en se guidant sur la lame et le dos de la scie qui forment points de mire, et sans s'interrompre pour regarder son trait. C'est ainsi que l'on obtient les meilleures coupes.

La lame osseuse obtenue de cette façon est loin d'être assez mince; de plus, elle a sur ses deux faces des raies correspondant aux dents de la scie. Pour les enlever, on use la lame en la frottant sur une pierre ponce. On choisit, comme nous l'avons dit plus haut, une pierre ponce coupée dans le sens de ses fibres; on y met un peu d'eau, on appuie sur la lame d'os avec le doigt et l'on frotte jusqu'à ce que les inégalités aient disparu. Puis on la retourne et l'on en fait autant sur l'autre côté. La lame osseuse est ensuite placée entre deux pierres ponces à section bien plane que l'on frotte l'une sur l'autre; elle se trouve bientôt fixée sur l'une des pierres par une sorte de ciment formé des débris de la pierre et des parcelles de l'os, et l'autre polit sa face libre.

Cette partie de l'opération doit être faite avec précaution pour ne pas casser la lame osseuse, devenue très mince. Lorsque celle-ci est à peu près transparente, on enlève les raies produites par la pierre ponce et l'on finit de l'amincir en la frottant sur une pierre fine humectée d'eau. Elle est alors bonne pour l'observation microscopique; nous dirons plus loin (voy. *Tissu osseux*) comment on achève la préparation.

On a recommandé d'autres procédés pour faire ces coupes, par exemple de coller la lamelle osseuse sur un bouchon avec de la gomme laque et de la frotter sur une surface de grès. C'est plus long et cela ne réussit pas mieux.

Coupes des dents. — Il est impossible de diviser avec une scie l'émail des dents, parce qu'il est beaucoup trop dur et se casserait en éclats. Il faut, pour le couper, se servir de fils d'acier tendus, en interposant de l'émeri avec un peu d'eau. Si l'on ne tient pas à faire plus d'une préparation avec une dent, on a plus vite fait de l'user à la meule. On prend la dent avec les doigts et on l'applique sur la meule, de manière à l'user peu à peu, jusqu'à ce qu'on ait atteint le plan que l'on s'est fixé; puis elle est retournée et usée de l'autre côté. Ensuite on polit les deux faces de la coupe sur une pierre d'Arkansas imbibée d'eau.

Congélation. — Un des procédés les plus simples pour fixer et durcir les tissus, c'est de les faire geler.

En soumettant les tissus à la congélation, on leur donne une grande fermeté par le fait de la solidification de l'eau qu'ils contiennent. Cette méthode donne d'excellents résultats pour l'étude d'un grand nombre d'organes et de tissus; elle est d'une application facile quand on est bien outillé.

Voici le procédé le plus simple. On prend un petit creuset de métal, solidement fermé par un bouchon. A la partie inférieure du bouchon est fixé l'objet que l'on veut faire geler. Le creuset est placé dans un mélange réfrigérant de glace pilée et de sel marin (2 de glace pour 1 de sel marin), mélange dans lequel on fait également plonger le rasoir, parce qu'autrement la chaleur de la lame ferait fondre le tissu qu'on se propose de couper. Pour faire la coupe, on retire le rasoir, on l'essuie rapidement, on enlève le bouchon du creuset, et l'on pratique rapidement deux ou trois coupes. C'est là le procédé que F. Boll a suivi dans son étude des glandes salivaires. Il présente plusieurs inconvénients : d'abord le mélange réfrigérant ne se maintient pas longtemps à une basse température; ensuite le rasoir est mouillé, et il est nécessaire de l'essuyer chaque fois avant de faire des coupes; enfin le maniement du petit creuset au milieu du mélange est lent et difficile.

Nous nous servons dans notre laboratoire, pour congeler les objets, d'une glacière artificielle, système Penant, à laquelle nous avons fait une légère modification.

Cette glacière se compose d'une boîte cylindrique d'environ 25 centimètres de haut et 10 centimètres de diamètre intérieur, formée de deux enveloppes métalliques séparées par du feutre, et qui se ferme au moyen d'un couvercle maintenu par une vis de pression. C'est dans cette boîte que l'on met le mélange réfrigérant. Dans ce mélange plonge un cylindre métallique muni à sa partie supérieure d'un rebord qui le maintient et recouvert d'un disque de caoutchouc sur lequel vient appuyer le couvercle de la boîte, de manière à l'occlure complètement.

Au lieu du mélange d'acide chlorhydrique et de sulfate de soude qu'emploie l'inventeur, nous nous servons du mélange de glace et de sel marin

indiqué plus haut. Aussi avons-nous dû munir le récipient intérieur d'une pointe de fer qui permette de l'enfoncer dans la masse.

Pour se servir de cet appareil, on commence par mettre dans la boîte, par couches alternatives, de la glace et du sel marin, dans les proportions indiquées plus haut; puis on enfonce dans cette masse le récipient intérieur dans lequel ont été placés, d'une part le rasoir, de l'autre les tissus à congeler fixés sur l'une des extrémités d'un cylindre de moelle de sureau ou d'un bouchon de liège. Le disque de caoutchouc mis en place et le couvercle exactement appliqué, l'appareil est abandonné à lui-même pendant quelques minutes; puis le rasoir et le cylindre de moelle de sureau sont retirés et les coupes sont exécutées, à main libre, aussi rapidement que possible.

Le microtome de Roy modifié par M. Malassez peut être employé avec avantage lorsqu'on se propose de pratiquer des coupes de tissus ou de fragments d'organes, congelés par le chlorure de méthyle. Les pièces que l'on veut couper après congélation sont placées sur le plateau métallique d'un support spécial au-dessous duquel le chlorure de méthyle est projeté à l'aide d'un appareil particulier (voy. fig. 55). Le liquide en excès est recueilli au moyen d'un tampon d'ouate et, ne s'écoulant pas, continue, en s'évaporant, à abaisser la température de la pièce à couper.

On peut aussi adapter un support à congélation au chariot porte-objet du microtome de Thoma et Yung.

Les coupes de tissus congelés, exécutées à l'aide de ces microtomes, se présentent sous la forme de petits copeaux enroulés sur eux-mêmes et placés sur la face supérieure de la lame du rasoir. On les porte, à l'aide d'un pinceau, ou mieux avec la pulpe du doigt, non pas dans de l'eau pure où elles se couvriraient de bulles d'air, mais dans de l'eau salée ou préalablement bouillie, ou bien encore dans de l'alcool au tiers. Les coupes se déroulent immédiatement dans ces liquides et l'on peut alors les recueillir étalées sur une lame de verre, les colorer et les monter en préparations persistantes.

Dessiccation. — Henle a tiré un grand parti de cette méthode. Si elle ne conserve pas exactement la forme des éléments, elle permet en revanche de se rendre un compte exact de leurs rapports. Elle convient surtout pour les membranes.

Il faut prendre, pour les dessécher, des fragments d'organes très petits, les étendre sur une plaque de liège avec des épingles et les abandonner à l'air. Il faut éviter la putréfaction. Elle ne se produit pas si la dessiccation se fait rapidement, dans un courant d'air chaud, par exemple, ou si la pièce avant d'être exposée à l'air a été traitée par l'alcool. Cela se comprend si aisément que toute explication est inutile.

Pour obtenir une dessiccation rapide, on peut encore se servir du moyen suivant. La pièce, tendue sur une plaque de liège, est placée sous une cloche rodée reposant sur une glace dépolie. Sous la cloche, on dispose dans une soucoupe du chlorure de calcium. L'humidité de l'air est absorbée par le chlorure , et le tissu, se trouvant dans un air complètement sec, se dessèche rapidement. Lorsqu'on dispose d'une étuve à incubation, il suffit, pour

obtenir une dessiccation convenable, de placer sur le couvercle de cette étuve les plaques de liège sur lesquelles ont été fixés les tissus.

Les tissus que l'on soumet à la dessiccation doivent être régulièrement tendus, c'est pour cela qu'on les fixe sur une lame de liège avec des épingles. S'ils sont disposés en membranes, on peut les tendre par insufflation. Ainsi, pour appliquer la méthode de la dessiccation à une portion du tube intestinal, il suffit de placer une ligature à chacune de ses extrémités et de l'insuffler. On obtient ainsi un manchon qui sèche rapidement. Pour appliquer cette méthode à la préparation du poumon, il suffit d'en prendre une portion près du bord, dans une ligature, et de la séparer ensuite par une incision pratiquée au delà de la ligature. On l'expose à l'air; elle se dessèche facilement.

Les coupes des tissus desséchés exigent des rasoirs durs et dont le tranchant ne soit pas trop aigu. Les tissus compacts, lorsqu'ils sont complètement desséchés, sont parfois tellement durs qu'ils se laissent difficilement entamer; il est nécessaire de les humecter au moyen de l'haleine. La vapeur d'eau contenue dans l'air expiré vient humecter une mince couche de la surface et la ramollit, tandis qu'au-dessous le tissu reste dur et sert de guide au rasoir.

Les organes desséchés sont souvent trop petits pour qu'on puisse les tenir directement de la main gauche pendant qu'on les coupe de la droite. Il faut alors les saisir dans une fente pratiquée dans un bouchon de liège ou dans un cylindre de moelle de sureau.

Il est nécessaire que les coupes de tissus desséchés soient très minces, parce que, placées dans l'eau, elles se gonflent dans la même proportion que la pièce dont elles proviennent s'est rétractée par la dessiccation. Elles peuvent ainsi doubler d'épaisseur.

Réactifs durcissants. — Les réactifs chimiques sont beaucoup plus employés aujourd'hui que les deux méthodes dont nous venons de parler; ils donnent aux tissus la dureté convenable en conservant mieux la forme et les rapports des éléments. En effet, ils sont en même temps durcissants et fixateurs. Ces réactifs sont : l'alcool, l'acide chromique, le bichromate de potasse ou d'ammoniaque, l'acide picrique, l'acide osmique, etc.

Alcool. — L'alcool est le réactif le plus anciennement employé, et c'est celui dont on se sert encore le plus aujourd'hui. Il faut prendre de l'alcool fort, à 90 degrés; il importe d'y plonger les tissus tout à fait frais et surtout qu'ils n'aient pas subi trace de putréfaction. Les fragments d'organe qu'on y place ne doivent pas avoir plus d'un centimètre de côté, et il faut que la quantité d'alcool soit de 25 centimètres cubes au moins. Il est nécessaire de maintenir par un fil la pièce à une certaine distance du fond du vase où les matières albuminoïdes et salines, en s'accumulant, empêcheraient bientôt l'alcool de continuer son action; si au contraire la pièce flotte dans le liquide, elle se trouve toujours dans un milieu d'alcool fort.

Il est très important de savoir combien de temps une pièce doit être laissée dans l'alcool. On croit généralement qu'elle peut y rester indéfiniment sans préjudice, c'est une erreur. Il vaut beaucoup mieux qu'elle n'y séjourne

que vingt-quatre ou quarante-huit heures. On aura même intérêt à ne pas y laisser aussi longtemps les tissus délicats, les muqueuses et les glandes par exemple.

Les coupes des tissus ainsi durcis doivent être faites à main libre, soit d'avant en arrière, soit plutôt d'arrière en avant, avec un rasoir très tranchant. On guide alors la lame sur l'ongle du pouce de la main gauche qui tient la pièce; on acquiert ainsi de la sûreté.

Acide chromique. — Ce réactif a été employé pour la première fois par Hannover en 1840. C'est une idée d'économie qui l'y avait poussé. Quoi qu'il en soit, son emploi, surtout pour les centres nerveux et pour les nerfs, constitue un véritable progrès. Pour en tirer tout le profit possible, il est indispensable d'en connaître exactement la technique, de bien peser et mesurer les doses, et de ne pas s'en rapporter, comme on est trop souvent tenté de le faire, à la couleur du mélange.

L'acide chromique durcit les tissus à la dose de 2 à 5 pour 1000. Il faut commencer par des solutions faibles et les prendre très abondantes. Frey insiste avec raison sur ce dernier point; en effet, si le liquide est en petite quantité, il arrivera un moment où la diffusion des matières albuminoïdes à l'extérieur et la diffusion du liquide dans la pièce s'arrêteront, parce que l'équilibre sera établi. Si l'on emploie, au contraire, de grandes quantités de liquide, il continuera à s'en diffuser dans la pièce pendant longtemps.

Les fragments d'organe peuvent être un peu plus grands que si on employait l'alcool pour les durcir; mais la limite extrême doit être 5 centimètres de côté, et il vaut mieux même s'en tenir à des fragments de 2 centimètres. Il faut au moins 200 grammes de liquide pour des fragments de cette dimension.

Pour durcir la moelle épinière, qui est formée d'un tissu très serré et qui contient beaucoup de graisse, ce qui entrave la diffusion, il faut la diviser en segments n'ayant pas plus de 2 centimètres de longueur et la placer dans 2 litres de liquide que l'on renouvelle quelques jours après. Au bout de six semaines à deux mois, le durcissement est généralement produit, et il ne faut pas laisser l'acide agir plus longtemps; autrement le tissu devient friable. Quand la pièce est convenablement dure, elle est mise un jour ou deux dans l'eau ordinaire et ensuite dans l'alcool à 90 degrés. Elle y prend une teinte verdâtre, une homogénéité plus complète et une consistance plus grande. Cette méthode convient aussi pour préparer d'autres tissus, les parenchymes glandulaires, la peau, les diverses tumeurs, etc.

L'acide chromique a la propriété de ramollir les os et les tissus ossiformes, en dissolvant les sels calcaires; aussi peut-on l'employer pour préparer une pièce qui contient à la fois de l'os et des tissus mous, lorsque l'on se propose d'observer les rapports de ces différents tissus. Il faut y mettre des fragments osseux très petits, de 5 à 6 millimètres de côté. Les os embryonnaires, qui sont moins compacts et par conséquent contiennent beaucoup moins de sels calcaires, peuvent être pris en fragments un peu plus gros.

Bichromate de potasse et bichromate d'ammoniaque. — Le bichromate de

potasse et le bichromate d'ammoniaque sont des équivalents au point de vue histologique : on les emploie à des doses dix fois plus fortes que l'acide chromique, c'est-à-dire, en solutions de 2 à 5 pour 100. Le durcissement s'y fait avec une très grande lenteur; mais avec le temps il devient suffisant et les pièces présentent alors une très bonne consistance.

Liquide de Müller. — H. Müller a conseillé, pour préparer la rétine, un liquide très souvent employé dans les laboratoires et qui a conservé son nom. En voici la formule :

Eau	100
Bichromate de potasse	2
Sulfate de soude	1

Ce liquide agit à peu près comme le bichromate d'ammoniaque ou de potasse à 2 pour 100.

Quelques histologistes se servent, pour durcir le cerveau et la moelle, d'un réactif qui se rapproche du liquide de Müller et qui est connu sous le nom de liquide d'Erlicki.

Il est ainsi composé :

Bichromate de potasse	2gr,5
Sulfate de cuivre	1
Eau	100

Acide picrique. — Cet acide s'emploie en solution saturée à froid. Pour la préparer, il suffit de mettre des cristaux d'acide picrique dans un flacon avec de l'eau filtrée. Cette solution peut aussi se faire à chaud; par le refroidissement l'excès d'acide se dépose et la solution reste concentrée.

Pour obtenir un durcissement convenable avec ce réactif, il faut deux conditions : d'abord, la solution doit être saturée; ensuite les pièces que l'on y place doivent être relativement petites, 1 à 2 centimètres de côté, par exemple, pour 150 à 200 grammes de liquide. Contrairement à ce qui convient pour les réactifs dont nous avons parlé plus haut, il vaut mieux laisser la pièce au fond du vase et ajouter quelques cristaux d'acide.

Le durcissement produit par l'acide picrique diffère un peu de ceux dont nous avons parlé jusqu'ici. L'alcool durcit les objets en coagulant l'albumine et en se substituant à l'eau; il les dessèche. L'acide chromique se combine avec les éléments des tissus et produit une sorte de tannage. L'acide picrique y détermine une modification beaucoup moins complète, les éléments ne sont pas soudés les uns aux autres, il ne se combine pas non plus avec eux comme l'acide chromique.

Les pièces jaunissent dans l'acide picrique, mais les coupes qu'on en fait se décolorent quand on les lave à l'eau, tandis qu'après l'action de l'acide chromique elles restent jaunâtres.

L'acide picrique forme avec la chaux un sel soluble. Aussi les os que l'on a soumis à son action, tout en étant ramollis aussi bien que si on les avait traités par l'acide chromique, ne renferment-ils jamais de cristaux de sels calcaires. En outre, il est un excellent fixateur. Il ménage et conserve admi-

rablement les parties les plus délicates, par exemple les filaments nucléaires des cellules en voie de division indirecte.

Il ne donne pas, il est vrai, aux organes, une consistance très ferme, et pour en faire des coupes à main libre au sortir de la solution picrique, il faut une certaine habitude; mais on peut compléter le durcissement par la gomme et l'alcool (voy. plus loin).

Liquide de Kleinenberg. — Au lieu d'employer, comme je le faisais et comme je l'avais recommandé, l'acide picrique pur en solution dans l'eau, Kleinenberg y a ajouté une faible quantité d'acide sulfurique. Voici la composition de ce liquide :

Eau distillée	100
Acide sulfurique concentré	2
Acide picrique jusqu'à saturation.	

Acide osmique. — L'acide osmique introduit dans la technique histologique par Max Schultze[1] est un réactif fixateur de premier ordre. Il donne également à beaucoup de tissus une consistance assez grande pour que l'on puisse y pratiquer des coupes microscopiques. On l'emploie en solutions dans l'eau distillée ou dans la solution physiologique de sel (voy. page 60) à la dose de 1 pour 500 jusqu'à 2 pour 100. Les fragments d'organes que l'on met dans la solution doivent être très petits, par exemple des cubes n'ayant pas plus de deux millimètres de côté. Si on les place dans la solution dont on fait le plus souvent usage, la solution au centième, il suffira de 3 à 4 centimètres cubes de cette solution. On doit mettre dans un petit flacon bien bouché la solution d'acide osmique et les fragments d'organes que l'on soumet à son action. Généralement le durcissement, obtenu au bout de dix à douze heures, n'est pas augmenté par un séjour plus long dans la solution. S'il n'est pas suffisant il faut le compléter par la gomme et l'alcool.

Les solutions d'acide osmique émettent, à la température ordinaire, des vapeurs dont l'action, plus délicate que celle des solutions elles-mêmes, peut être utilisée avec avantage.

Les vapeurs d'acide osmique fixent dans leur forme les éléments encore frais. On peut soumettre à leur action des membranes minces bien étalées, des coupes, des fragments de tissus, des éléments en suspension dans un liquide, etc. :

On verse dans un godet de porcelaine ou de verre quelques gouttes d'une solution de cet acide à 1 pour 100. On recouvre le godet d'une lame de verre à la face inférieure de laquelle se trouve maintenue par capillarité, dans une goutte de liquide indifférent ou de réactif colorant, la membrane ou le fragment de tissu que l'on se propose de soumettre à l'action du réactif. Le godet est alors placé dans une assiette sur une mince couche d'eau, et on le recouvre d'une petite cloche de verre. En général, au bout d'un quart d'heure, la fixation est obtenue.

1. Ce réactif est indiqué pour la première fois dans les *Archives* de Max Schultze, 1865 p. 132.

Il est bon d'ajouter que si l'on fait agir les vapeurs d'acide osmique sur une membrane mince ou sur une coupe, la membrane ou la coupe doit être soigneusement étalée afin d'éviter les plis que le réactif fixerait dans leur forme.

Cette méthode est extrêmement délicate. A son aide, on fixe les éléments tels qu'ils apparaissent à l'état vivant au moment même où s'est produite l'action du réactif. C'est ainsi que l'on peut fixer à l'aide des vapeurs d'acide osmique les modifications que l'on a produites sur les éléments ou les tissus. La cornée d'une grenouille, par exemple, dont on a rendu apparents les noyaux ou les cellules, laisse voir, après fixation, ces noyaux ou ces cellules tels qu'ils apparaissaient dans la membrane immédiatement auparavant.

Liquide de Flemming. — Flemming a conseillé pour l'étude de la division indirecte des cellules une composition qui est très généralement employée aujourd'hui et dans laquelle il entre de l'acide chromique et de l'acide osmique.

Voici la formule de ce réactif :

Acide chromique à 1 pour 100.	15
Acide osmique à 2 pour 100..	4
Acide acétique cristallisable..	1

Si l'on veut obtenir de très belles colorations des parties chromatiques des noyaux par l'hématoxyline nouvelle (voy. plus loin), il est préférable d'employer un mélange d'alcool et d'acide osmique, par exemple :

Alcool à 90°..	9 volumes.
Acide osmique à 1 pour 100.	1 volume.

Ce mélange doit être fait au moment de s'en servir parce que l'acide osmique se réduit dans l'alcool; il faut le faire agir sur des fragments de tissus très petits, ou bien à la surface d'organes que l'on ne doit fixer que dans une petite profondeur, l'expansion membraneuse de la queue des têtards par exemple.

Acide perruthénique. — Nous avons utilisé l'acide perruthénique[1] à l'état de vapeurs, en modifiant pour cela les dispositions du petit appareil décrit plus haut à propos de l'emploi des vapeurs d'acide osmique; cet appareil modifié peut, du reste, être utilisé avec avantage lorsqu'on fait agir sur les tissus les vapeurs d'acide osmique.

Au lieu d'eau nous avons mis au fond de l'assiette une couche de cire à modeler, à la surface de laquelle nous avons étendu une lame mince de caoutchouc. C'est sur cette lame que nous avons placé le godet contenant l'acide perruthénique en solution et la cloche destinée à le recouvrir. Les bords de cette cloche déprimaient la cire à modeler, de telle sorte qu'il y avait obturation complète et que les vapeurs très irritantes de l'acide perruthénique ne pouvaient se répandre dans l'atmosphère.

1. De l'emploi de l'acide perruthénique dans les recherches histologiques et de l'application de ce réactif à l'étude des vacuoles des cellules caliciformes. *Comptes rendus. Académie des Sciences*, 1887.

Ce réactif colore instantanément en noir les substances organiques avec lesquelles il est mis en contact; c'est grâce à cette propriété que nous avons pu colorer en noir des éléments incolores que l'acide osmique fixait sans les colorer et que nous avons pu obtenir des préparations renfermant des cellules caliciformes ou des globules rouges du sang de la grenouille, colorés en noir alors que les vacuoles de ces éléments restaient incolores.

Chlorure d'or. — Le chlorure d'or s'emploie en solution de $\frac{1}{2}$ à 2 pour 100. Ce réactif, introduit dans la technique par Cohnheim[1], n'est pas, à proprement parler, un réactif durcissant. Il est employé surtout pour colorer certains éléments; mais nous le plaçons ici parce qu'il produit dans quelques organes, la cornée par exemple, une légère augmentation de consistance qui permet d'y pratiquer des coupes.

Gomme arabique. — La méthode de durcissement par la gomme est assez complexe.

Voici d'abord le procédé de Brücke : un petit fragment (de 5 millimètres à 1 centimètre de côté) d'un tissu préalablement durci par l'acide chromique ou par le liquide de Müller est placé dans un petit cornet de papier ordinaire; par-dessus l'objet on verse dans le cornet une solution sirupeuse de gomme arabique, et le tout est placé dans un verre à expériences rempli d'alcool. L'alcool pénètre peu à peu dans le cornet et y solidifie la gomme qui forme ainsi une masse dans laquelle se trouve inclus l'objet.

On emploie actuellement une méthode plus simple : la pièce soumise d'abord à l'action d'un réactif fixateur, acide osmique, acide picrique, bichromates alcalins, etc., est ensuite placée dans une solution de gomme arabique très légèrement sirupeuse. Si la solution de gomme était épaisse, elle ne pénètrerait pas les tissus et en amènerait le retrait en leur soutirant de l'eau. Lorsque la gomme s'est répandue dans l'intérieur de la pièce, ce qui est généralement produit au bout de vingt-quatre heures, elle est placée dans de l'alcool à 90° qui, diffusant peu à peu, coagule la gomme et donne aux tissus une dureté homogène et une grande cohésion.

Manière de pratiquer les coupes d'objets durcis. — Il faut distinguer deux cas : celui où les objets sont assez grands pour être tenus à la main et celui où ils sont trop petits pour que ce soit possible.

Dans le premier cas, il y a quelques précautions à prendre.

La surface de la pièce peut être salie par le contact des doigts, de la table, etc.; elle est inégale et rugueuse par suite du retrait qu'elle a subi dans les réactifs; il faut donc commencer par aviver cette surface avec le rasoir, et en enlever une première tranche. Cette première section doit être exécutée d'un seul coup, sans hachures. On peut la faire, soit d'avant en arrière, soit d'arrière en avant. Puis on fait la seconde section aussi d'un seul trait et aussi franchement que possible. Cette section doit toujours être faite dans le même sens et de la même façon que la première, afin que les deux surfaces de coupe soient parallèles.

1. *Cohnheim.* Ueber die Endigung der sensiblen Nerven in der Hornhaut der Säugethiere. (*Centralblatt*, 1866, p. 401.)

Le rasoir doit être tenu et manié de telle sorte que sa surface supérieure soit bien horizontale. Elle doit être couverte d'une couche de liquide, autrement la coupe que l'on vient de détacher adhère au métal, s'y plisse ou s'y déchire; lorsque le rasoir est mouillé, elle flotte et s'enlève facilement. On doit employer pour mouiller le rasoir de l'alcool à 90° ou de l'alcool dilué, afin d'éviter que la graisse, qui se trouve sur la lame avant de faire la première coupe et celle qui s'y dépose souvent au moment de la section, n'empêche le liquide de s'y étaler d'une manière régulière.

Si les objets que l'on veut diviser en coupes microscopiques sont trop petits pour que l'on puisse les tenir à la main, on doit employer pour les maintenir un procédé d'inclusion. L'objet et le corps qui l'enveloppe sont alors coupés ensemble.

Inclusion dans la moelle de sureau. — L'inclusion dans la moelle de sureau est d'une application facile; elle suffit dans la majorité des cas.

Si l'objet que l'on veut inclure est cylindrique et de petit diamètre, un nerf par exemple, on perce un trou dans la moelle de sureau avec une aiguille, on l'agrandit par refoulement et on y introduit l'objet. La moelle de sureau est alors plongée dans l'eau, et les portions refoulées par l'aiguille se dilatent et viennent s'appliquer exactement sur l'objet inclus.

Si l'objet est plus volumineux, on fait un trou dans la moelle à l'aide d'une lime ronde appelée queue-de-rat. Il faut faire le trou plus petit que l'objet, et d'autant plus petit que celui-ci doit être plus comprimé. On l'agrandit ensuite par compression avec une baguette de verre; on y insère la pièce, et on place le tout dans l'eau ou dans un liquide conservateur; la moelle revient sur l'objet et l'entoure exactement.

Lorsque l'objet que l'on veut fixer doit être soumis à l'action de l'alcool, on met une petite couche de gomme sirupeuse sur une de ses faces, que l'on applique sur un morceau de moelle de sureau, et l'on plonge le tout dans de l'alcool fort; la gomme est solidifiée par ce réactif, et l'objet se trouve fixé sur la moelle de sureau.

Inclusion dans la paraffine. — Il faut choisir, pour pratiquer l'inclusion, une paraffine dont le point de fusion ne dépasse pas 60°. Lorsque la paraffine est refroidie, l'objet se trouve inclus et l'on peut y faire des coupes. Pour reconnaître l'endroit où il se trouve, il est bon de le fixer avec une aiguille avant de verser la paraffine; la position de l'aiguille indique celle de l'objet.

Inclusion dans un mélange de cire et d'huile. — Stricker[1] a recommandé un mélange de cire vierge et d'huile d'olives fondues ensemble et dont il fait varier les proportions suivant le degré de dureté qu'il veut obtenir. C'est un excellent procédé. Habituellement, je combine le procédé d'inclusion dans la cire et l'huile et celui d'inclusion dans la moelle de sureau. Ce procédé mixte doit être particulièrement recommandé à tous ceux qui aujourd'hui font encore des coupes sans microtome. Voici comment on l'emploie : sur

1. *Stricker*, Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig, 1871, p. XXIII.

l'une des faces planes d'un fragment de moelle de sureau, on creuse une cavité un peu plus grande que la pièce à inclure. Celle-ci doit être dans l'alcool. On plonge dans ce réactif la moelle de sureau. Tout au moins faut-il en mouiller les parois de la cavité dont on l'a creusée, pour éviter les bulles d'air qui se dégageraient nécessairement plus tard dans le mélange de cire et d'huile à l'état de fusion. La pièce, au sortir de l'alcool, est disposée convenablement dans la petite cavité que l'on a creusée pour la recevoir, et, lorsque l'alcool est suffisamment évaporé pour que sa surface ne paraisse plus mouillée, on verse le mélange de cire et d'huile que l'on a fondu dans une petite capsule de porcelaine et que l'on a laissé refroidir ensuite jusqu'à ce qu'il commence à se figer. De la sorte, on est sûr de ne pas altérer les tissus en les soumettant à une température trop élevée.

Procédé de Flemming. — Flemming[1] a recommandé l'inclusion dans du savon transparent sans glycérine. Ce savon est dissous dans l'alcool chaud; on verse la solution sur l'objet, et quand le mélange est refroidi, il se trouve inclus dans une masse solide qui se coupe bien avec le rasoir, et dans laquelle on l'aperçoit par transparence.

Inclusion dans le collodion et la celloïdine. — Le collodion et la celloïdine constituent des masses d'inclusion plus transparentes encore que celles dont nous venons de parler. La celloïdine n'est autre chose qu'un collodion solide que l'on trouve dans le commerce sous la forme de plaques solubles dans un mélange à parties égales d'éther sulfurique et d'alcool absolu.

La méthode d'inclusion dans le collodion a été imaginée par M. Duval[2]. La celloïdine a été préconisée par Merkel et Schiefferdecker[3].

Pour employer cette dernière substance, il faut faire un mélange, à parties égales, d'éther sulfurique et d'alcool absolu, liquide dissolvant du fulmicoton. La celloïdine du commerce est placée en fragments dans ce mélange; elle s'y dissout en formant une masse sirupeuse dont on peut faire varier à volonté la consistance. Le fragment de tissu, complètement imbibé d'alcool absolu, est placé dans un petit vase clos contenant une solution de celloïdine peu épaisse. Lorsque celle-ci a pénétré dans tous les interstices de la petite pièce, ce qui a généralement lieu au bout de vingt-quatre heures, on taille dans une des extrémités d'un cylindre de moelle de sureau une petite cupule assez grande pour la contenir; on l'y dépose avec de la celloïdine et on laisse évaporer un instant, jusqu'à ce qu'il se soit formé une pellicule à la surface de la celloïdine qui entoure le fragment de tissu. On reconnaît la formation de cette pellicule en touchant avec la pulpe du doigt. On place alors la moelle de sureau dans l'alcool ordinaire, et, vingt-quatre heures après, la masse de celloïdine a pris une consistance suffisante pour qu'on puisse, sans difficulté, exécuter des coupes qui comprennent les tissus et la celloïdine

1. *Flemming*, Arch. für mikroskop. Anatomie, vol. IX, 1873, p. 121.

2. *Duval*, De l'emploi du collodion humide pour la pratique des coupes microscopiques. (*Journ. de l'Anat. et de Phys.*, 1879, p. 185.)

3. *P. Schiefferdecker*, Ueber die Verwendung des Celloidins in der anatom. Technik. (*Arch. f. Anat. u. Phys.* 1882, p. 200.)

qui les entoure. Ces indications sont exactement applicables à l'emploi du collodion.

Inclusion dans le microtome. — Les substances et les mélanges dont nous venons de parler peuvent aussi servir à monter les pièces dans le microtome. Pour cela, on met au-dessus du petit plateau que supporte la vis de cet instrument, un disque de liège qui ferme exactement le calibre du tube et que l'on fait monter plus ou moins haut, de manière à avoir une cavité cylindrique bien fermée par en bas. Sur le disque de liège, on fixe au moyen d'une épingle ou d'une aiguille, dans une position convenable, le fragment de tissu sur lequel on veut faire des coupes, et l'on verse par-dessus la paraffine ou le mélange de cire et d'huile, ou telle autre masse à inclure que l'on a choisie. L'objet se trouve ainsi solidement fixé dans le microtome, et il suffit de faire tourner la vis qui supporte le plateau et le disque de liège pour faire affleurer l'objet au niveau de la plate-forme et en faire dépasser successivement des tranches aussi minces que l'on voudra.

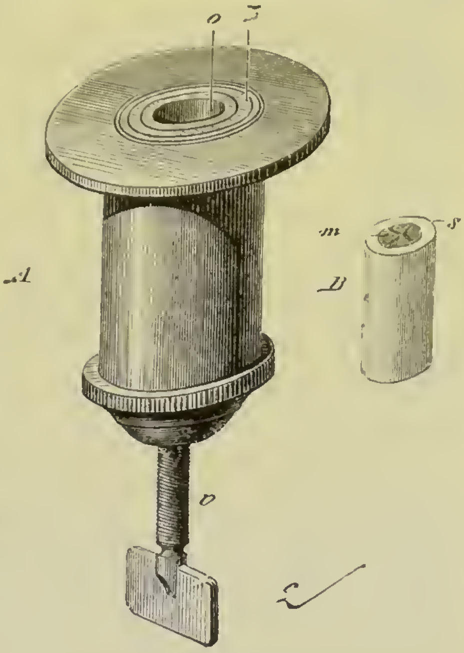


Fig. 40. — Microtome.

L'inclusion des objets dans le microtome peut aussi se faire au moyen de la moelle de sureau, et suivant deux procédés. Dans le premier, on choisit un cylindre de moelle de sureau, dans lequel la pièce à couper peut être contenue (B, fig. 40) ; on y pratique, suivant son axe, un trou avec une lime dite queue-de-rat. Ce trou doit avoir un diamètre inférieur à celui de la pièce. Pour lui faire acquérir une largeur suffisante, on refoule la moelle de sureau dans tous les sens jusqu'à ce que la pièce entre sans difficulté. Il suffit alors de placer le tout dans l'eau pour voir les parties de la moelle de sureau qui ont été comprimées revenir sur elles-mêmes et s'appliquer sur la pièce de manière à la maintenir solidement. Cette première opération étant faite, le cylindre de moelle de sureau est placé dans le calibre *o* du microtome, et en tournant la vis, on le fait monter de telle sorte qu'il affleure la plate-forme ou la dépasse plus ou moins, selon la volonté de l'opérateur.

Le second procédé pour fixer les objets dans le microtome consiste à les y caler au moyen de fragments de moelle de sureau. Après avoir placé la vis surmontée d'un disque de liège à une hauteur convenable, l'objet à inclure est placé sur ce disque et calé tout autour au moyen de fragments de moelle de sureau d'une forme appropriée d'abord comprimés avec les doigts, et que l'on enfonce en exerçant sur eux une certaine pression. Quand l'objet est ainsi à peu près fixé, on verse sur le tout de l'eau alcoolisée ; la moelle s'en imbibe, se dilate et fixe très solidement la pièce.

Pour faire des coupes avec le microtome, il est nécessaire de se servir d'un

rasoir dont une des faces est plane; cette face s'applique sur la plate-forme du microtome et se trouve de la sorte parfaitement guidée. Il est essentiel en outre que le rasoir et la face supérieure du microtome soient bien mouillés, pour que la coupe, au moment où elle se détache, glisse facilement sur le rasoir, comme nous l'avons dit plus haut.

Lorsque l'on se propose de réduire en coupes minces des objets très durs tels que des ongles par exemple, il faut caler très solidement ces objets dans le microtome à l'aide d'un bouchon que l'on divise et que l'on taille de telle sorte que ses fragments, pénétrant à frottement dur dans le microtome, s'appliquent exactement sur la pièce à couper et la maintiennent invariablement.

Le microtome contenant la pièce est alors fixé dans un étau par l'intermédiaire de deux morceaux de bois d'une forme spéciale. La pièce est alors arrosée d'alcool et à l'aide d'un rasoir à tranchant résistant manié des deux mains, on enlève la coupe en procédant d'arrière en avant par petits coups saccadés.

Cette manière de détacher une coupe par petits coups est excellente lorsque les parties qui composent l'objet sur lequel on agit sont de consistance différente, parce que la brusquerie du coup de rasoir lui donne une si grande force que les différences de consistance sont supprimées. Nous l'avons vue employée pour la première fois par Hoggan qui avait imaginé et fabriqué lui-même un microtome fort ingénieux qui n'aurait pas pu fonctionner avec une autre manière de se servir du rasoir.

Le microtome à chariot décrit plus haut est surtout utile pour obtenir des coupes très minces d'objets délicats ou des coupes très étendues, mais un peu plus épaisses, qui deviennent faciles à exécuter si l'on adapte à l'instrument les couteaux de grandes dimensions fabriqués aujourd'hui par la plupart des constructeurs. Les objets à couper sont saisis entre les mors des pinces mobiles, soit directement, soit par l'intermédiaire d'un morceau de bois convenablement taillé sur lequel elles sont collées à l'aide de la colle forte à froid des papetiers. Cette substance, se coagulant par un séjour de quelques heures dans l'alcool, maintient la pièce d'une manière suffisante.

Pour les besoins courants des laboratoires, il est plus simple d'avoir recours au microtome de Roy modifié par M. Malassez. On peut obtenir à l'aide de cet instrument des coupes très étendues et suffisamment minces que l'on fait soit en arrosant d'alcool le rasoir et l'objet à couper, soit en renversant l'instrument dans un baquet rempli d'alcool (voy. fig. 54). Les pièces sont fixées dans les pinces directement ou par l'intermédiaire d'un morceau de bois sur lequel elles sont collées comme il vient d'être dit.

Le microtome à bascule de Cambridge est destiné à couper des objets imbibés de paraffine et inclus dans cette substance. Il rend de grands services aux embryologistes en leur permettant de débiter en coupes minces disposées en série des embryons tout entiers.

CHAPITRE VIII

MÉTHODES DE COLORATION — IMPRÉGNATIONS — ÉCLAIRCISSEMENT DES OBJETS OPAQUES

Il est important, pour colorer les tissus que l'on doit soumettre à l'observation microscopique, de bien connaître les méthodes et de tenir compte exactement de tous les détails des procédés; une même matière colorante agit, en effet, d'une façon tout autre sur les mêmes éléments, suivant qu'ils sont vivants ou qu'ils sont morts, suivant qu'ils ont subi telle ou telle préparation, qu'ils ont été préalablement traités par un réactif ou par un autre.

Prenons par exemple les cellules à cils vibratiles de l'épithélium de l'œsophage de la grenouille. Examinés dans le sérum ou dans l'eau pure, leurs cils continuent à se mouvoir. Si on les met à ce moment en contact avec une solution de carmin neutre ou de toute autre matière colorante qui ne les tue pas immédiatement, elles demeurent incolores, les cils continuent leur mouvement. Dès qu'ils s'arrêtent, dès que la cellule est morte, la matière colorante y diffuse; son noyau se colore en rouge et son protoplasma en rose, tandis que le plateau et les cils demeurent incolores.

Si au contraire on traite par le carmin les mêmes cellules extraites d'une pièce durcie par l'acide chromique, le plateau et les cils se colorent, le protoplasma prend une teinte rosée et le noyau reste complètement incolore.

On voit combien il est essentiel, quand il s'agit de matières colorantes, de savoir par quels réactifs un tissu a passé avant d'être soumis à leur action.

Il faut distinguer, dans les colorations, les *teintures*, qui colorent les éléments de la couleur que possède la solution dans laquelle ils ont été plongés, et les *imprégnations*, dans lesquelles des sels métalliques produisent par le dépôt du métal des colorations tout autres que celles de la liqueur que l'on a employée.

Carmin. — C'est à Gerlach[1] que revient l'honneur d'avoir introduit la méthode de coloration des tissus des animaux à l'aide du carmin. Cette méthode a marqué le début d'un progrès considérable dans les recherches histologiques et a conduit à de nombreuses découvertes. Elle est devenue aujourd'hui d'un emploi si général, que plus des trois quarts des préparations histologiques conservées dans une collection sont teintes au carmin.

La propriété la plus remarquable et la plus utile du carmin, c'est l'élection de la matière colorante qu'il renferme pour certains éléments à l'exclusion des autres. Pour voir cette propriété se manifester, pour voir certains éléments dans une préparation se colorer, tandis que les autres restent inco-

1. *Gerlach*, Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. Erlangen, 1858.

lores, il est indispensable de connaître les bons procédés et de s'y tenir rigoureusement.

L'élection dépend d'un grand nombre de conditions, par exemple la provenance du carmin, le mode de préparation de la solution, sa richesse en matière colorante et la durée de son action.

Quand les tissus sortent de l'alcool, on peut les colorer rapidement au moyen de la solution suivante :

Eau distillée.	100
Ammoniaque.	1
Carmin.	1

Le carmin est broyé dans un mortier de porcelaine avec très peu d'eau, de manière à en faire une pâte, on y verse l'ammoniaque, qui dissout le carmin, et ensuite on ajoute le reste de l'eau.

Il faut qu'il y ait juste assez d'ammoniaque pour dissoudre le carmin; la coloration se fait d'autant mieux qu'il y en a un moindre excès. Si elle est en trop grande quantité, ce que l'on peut apprécier à l'odeur, il faut la laisser évaporer à l'air ou chauffer au bain-marie; le moment où l'on doit cesser de chauffer est indiqué par le commencement de précipitation du carmin.

Le carmin, comme on le sait, est fabriqué avec des cochenilles. Il contient donc une matière organique. La solution ammoniacale abandonnée à elle-même subit bientôt de la putréfaction. Sous son influence, il s'y produit des modifications telles que la matière sèche obtenue en évaporant au bain-marie le carmin pourri est soluble dans l'eau pure. Cette solution, portée à l'ébullition pour détruire les germes, filtrée et conservée avec un peu de thymol est un excellent réactif colorant.

Pour colorer une coupe d'un tissu qui a séjourné dans l'alcool, on commence par la porter dans l'eau; puis on glisse au-dessous d'elle une lame de verre sur laquelle elle est conduite avec un pinceau ou une aiguille. L'excès d'eau étant enlevé avec du papier à filtrer, on laisse tomber sur la coupe une ou deux gouttes de la solution de carmin. En général, au bout de quelques minutes, la coloration est produite. On lave à l'eau et la préparation est terminée d'une manière différente, suivant la nature du tissu et des éléments que l'on veut mettre en évidence, comme il sera dit plus loin.

Les solutions faibles de carmin ammoniacal ou de carmin neutre sont employées pour la coloration lente. Elles conviennent surtout pour colorer les coupes de tissus durcis par les bichromates alcalins ou l'acide chromique. On prend environ 20 centimètres cubes d'eau distillée, et l'on y ajoute goutte à goutte avec une pipette la solution de carmin jusqu'à ce que l'eau ait pris une teinte fleur de pêcher.

Cette solution, après avoir été filtrée, est mise dans un petit baquet au fond duquel a été placée une feuille de papier à filtrer. Sur ce papier sont déposées les coupes; le baquet est recouvert pour éviter la poussière. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, la préparation est colorée.

Les coupes sont mises sur du papier à filtrer, parce que, si elles reposaient directement sur le fond du vase, la face inférieure de la préparation aurait bientôt absorbé le carmin de la couche mince du liquide qui se trouverait au-dessous et ne se colorerait pas suffisamment, tandis que si la coupe repose sur du papier à filtrer, il se diffuse continuellement au-dessous d'elle de nouvelles quantités de carmin.

Lorsque la pièce a été durcie dans l'acide chromique avant d'être soumise à l'action du carmin, la coloration ne porte pas sur les mêmes éléments que lorsqu'elle n'a subi aucune préparation ou qu'elle a été durcie dans l'alcool ou l'acide picrique. Après durcissement par l'acide chromique, ce sont les faisceaux de tissu conjonctif qui se colorent, tandis que les noyaux des cellules ne se colorent pas. Les cylindres-axes des nerfs, qui ont une très grande affinité pour le carmin se colorent dans tous les cas. On peut cependant arriver à colorer les noyaux en enlevant l'excès d'acide chromique ou de bichromate par un séjour dans l'eau de vingt-quatre à quarante-huit heures et en traitant ensuite les coupes par l'acide formique; puis en reprenant par l'eau et en soumettant ensuite à l'action du carmin.

Les coupes de pièces durcies par l'acide picrique se colorent très facilement et avec une élection remarquable. Celles que l'on pratique après l'action de l'acide osmique se colorent difficilement; mais l'élection de la matière colorante pour les éléments se fait comme s'ils n'avaient pas subi l'action d'un réactif ou comme s'ils n'avaient pas été fixés par l'alcool ou l'acide picrique. A ce point de vue, l'acide osmique diffère complètement de l'acide chromique.

Carmin de Frey. — La solution ordinaire de carmin a deux inconvénients : l'ammoniaque en s'évaporant laisse précipiter le carmin et, d'autre part, il peut s'y développer des infusoires. Frey a réussi à éviter ces inconvénients en préparant la solution suivante :

Carmin.	0gr,50
Eau distillée..	50 grammes.

Ammoniaque, q. s. jusqu'à dissolution; on ajoute ensuite :

Glycérine.	50 grammes.
Alcool..	4

Cette liqueur n'a pas un grand avantage sur la solution carminée ordinaire au point de vue de la coloration, mais elle se conserve longtemps sans altération.

Carmin de Beale — En voici la formule :

Carmin.	0gr,64
Ammoniaque..	5gr,5
Eau distillée..	60 grammes.
Glycérine.	60
Alcool	15

Cette solution n'offre aucun avantage réel; elle a même l'inconvénient de rendre la coloration diffuse.

Carmin oxalique de Thiersch. — En voici la formule :

Carmin.	1	1
Ammoniaque.	1	
Eau	3	
Acide oxalique..	1	8
Eau..	22	
Alcool absolu.		12

On fait un premier mélange de carmin, d'ammoniaque et d'eau, dans les proportions indiquées, et un second mélange d'acide oxalique et d'eau; on prend 8 parties de ce second mélange pour une du premier, et l'on ajoute au tout 12 parties d'alcool absolu. Quand il se fait un précipité, on ajoute quelques gouttes d'ammoniaque.

Carmin acétique de Schweigger-Seidel. — L'ammoniaque nécessaire pour dissoudre le carmin exerce sur les éléments délicats l'action fâcheuse des alcalis en général. Schweigger-Seidel a essayé de l'éviter en faisant un carmin acide.

Pour cela, il verse peu à peu dans la solution ammoniacale de carmin de l'acide acétique jusqu'à produire la neutralisation complète, et même à la dépasser un peu. Il se fait un précipité peu abondant, qui est séparé par filtration, et l'on obtient une liqueur d'un rouge vineux. Les préparations y sont laissées pendant quelques minutes, puis plongées dans un mélange de :

Eau..	200 grammes.
Acide chlorhydrique.	1

Quelle que soit la liqueur carminée que l'on emploie, il est nécessaire de conserver les préparations dans le baume ou dans un milieu acide. On se sert généralement à cet effet de l'acide acétique, mais l'acide formique vaut mieux. Le meilleur milieu est le mélange de :

Glycérine	100
Acide formique.	1

que nous avons indiqué depuis plusieurs années.

On trouvera plus loin le détail de ces procédés dans le chapitre qui traite de la conservation des préparations.

Carmin au borax alcoolique. — Pour préparer cette solution, on fait dissoudre dans 100 grammes d'eau 4 grammes de borax et on y ajoute 2 à 3 grammes de carmin; puis on verse dans la solution 100 grammes d'alcool à 75°.

On plonge dans le réactif les tissus que l'on veut colorer, puis on les lave dans de l'alcool contenant 4 à 6 gouttes pour 100 d'acide chlorhydrique, puis dans l'alcool pur.

Carmin à l'alun. — Ce carmin est ainsi composé :

Solution aqueuse d'alun de 1 à 5 pour 100..	100
Carmin en poudre..	0,5 à 1

On fait bouillir la solution pendant une demi-heure, puis on filtre.

Ces solutions de carmin, indiquées par Grenacher[1], colorent les noyaux des éléments que l'on soumet à leur action; la coloration persiste lorsque les tissus sont montés dans la glycérine ou dans le baume du Canada.

Carmin aluné à l'acide acétique. — Cette solution, indiquée par Henneguy et Bolles Lee[2] se prépare de la manière suivante :

On fait bouillir du carmin dans une solution saturée d'alun, à laquelle on a ajouté 10 pour 100 d'acide acétique cristallisable; on laisse reposer quelques jours et on filtre.

La coloration porte uniquement sur les noyaux des éléments.

Carmin au lithium[3]. — Cette solution de carmin qui colore aussi les noyaux est ainsi composée :

Solution saturée de carbonate de lithium.	97,5
Carmin.	2,5

Carmin picrique. — Picrocarminate d'ammoniaque. — Ce réactif, que nous avons imaginé et dont nous nous servons, a l'avantage de n'agir ni comme acide, ni comme alcali.

Pour le préparer, on verse dans une solution saturée d'acide picrique, du carmin dissous dans l'ammoniaque, jusqu'à saturation. On laisse évaporer lentement à l'air libre dans de grands cristallisoirs. Il ne faut pas craindre la putréfaction; elle semble favoriser la réaction. Celle-ci exige du temps, des semaines et même des mois. Il se dépose peu à peu des cristaux de picrate d'ammoniaque et du carmin amorphe que l'on recueille pour une opération ultérieure. On décante, on filtre, on évapore à siccité au bain-marie. On reprend par l'eau distillée, on filtre et on évapore de nouveau. On obtient ainsi une poudre brune qui doit se dissoudre entièrement dans l'eau distillée; une solution au centième est la plus convenable.

Il y a deux manières de faire agir le picrocarminate d'ammoniaque (que nous appellerons dorénavant, pour abréger, picrocarminate). La première consiste à en mettre quelques gouttes dans un verre de montre et à y placer la coupe pendant un temps variable; cela dépend de la méthode qui a été suivie pour durcir les tissus. La seconde consiste à mettre du picrocarminate sur la lame de verre avec l'objet à colorer, à couvrir d'une lamelle et à fermer la préparation pour éviter l'évaporation. On peut aussi, au lieu de la fermer, mettre la préparation dans une chambre humide (voy. plus loin).

En faisant usage du picrocarminate, on peut avoir la coloration simple du carmin ou la double coloration du carmin et de l'acide picrique. La coloration au carmin seul s'obtient en plaçant la coupe colorée dans l'eau distillée, qui dissout l'acide picrique. Si, au contraire, on laisse le picrocarminate tel quel sur la préparation, on a la double coloration.

Le picrocarminate employé pour colorer des coupes de tissus desséchés,

1. *H. Grenacher*, Einige Notizen zur Tinctionstechnik. (*Arch. f. mik. Anat.*, XVI, 1879, p. 465.)

2. *Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique*, p. 88.

3. *J. Orth*, Notizen zur Färbetechnik. (*Berlin. Klin. Wochen.*, 28, 1883, p. 421.)

congelés, durcis par l'alcool, l'acide picrique ou l'acide osmique, donne des préparations remarquables par l'élection de la matière colorante sur des éléments bien déterminés. C'est un excellent réactif qui, aujourd'hui, a passé dans la pratique de tous les histologistes.

Schwarz a proposé une méthode compliquée où le carmin et l'acide picrique sont employés comme matières colorantes. La voici. On prend un mélange de :

Créosote	1
Vinaigre	10
Eau	20

dans lequel on fait bouillir les tissus. On les abandonne ensuite à la dessiccation; on y pratique des coupes qu'on met dans l'eau distillée, puis dans une solution d'acide acétique faible. Ensuite elles sont portées dans une solution faible de carmin, puis dans une solution de :

Acide picrique	0,066
Eau	400

et enfin dans un mélange de :

Créosote	4
Térébenthine vieillie	1

La préparation est montée dans la résine dammare.

Sulfate et acétate de rosaniline. — Ces deux substances, auxquelles on donne indistinctement les noms de *fuchsine*, *rouge d'aniline*, etc., se distinguent l'une de l'autre en ce que l'acétate est plus soluble dans l'eau que le sulfate, mais ce dernier l'est encore très suffisamment pour les besoins de l'histologie. Il faut même étendre la solution mère du sulfate pour l'employer.

Le principal inconvénient de ces couleurs est de teindre tout uniformément, de n'avoir que très peu d'élection; s'il y a des différences de coloration, elles tiennent surtout aux différences d'épaisseur et de densité des parties. Ainsi, dans une cellule plate, le noyau, qui possède une quantité de matière plus considérable que le reste de la cellule, sera coloré d'une façon plus intense. Cependant les solutions de rouge d'aniline conviennent pour teindre les éléments après qu'ils ont été dissociés par un mélange d'alcool et d'eau. Neumann[1] les a conseillées pour colorer les tubes nerveux après l'action de l'acide osmique. Elles teignent des éléments que le carmin n'atteint pas, comme par exemple les globules rouges du sang, quand ils ont été fixés par l'alcool ou quelques autres réactifs.

Bleu d'aniline. — Les deux espèces de bleu d'aniline indiquées page 55 sont employées dans les recherches histologiques. Le bleu insoluble dans l'eau, en solution alcoolique, sert à injecter le système canaliculé des os. Il colore les restes de substance cartilagineuse comprise dans les os (voy. le chapitre relatif au tissu osseux). Précipité par l'eau, il fournit des granula-

1. *Neumann*, Degeneration und Regeneration nach Nervendurchschneidungen, in *Archiv. der Heilkunde*, 1868, p. 193.

tions d'une extrême finesse reconnaissables au microscope. Ce bleu ainsi précipité a été employé par Cohnheim dans ses recherches sur l'inflammation.

Le bleu soluble en solution aqueuse colore d'une façon parfois très avantageuse les cellules épithéliales dissociées après l'action de l'alcool au tiers.

Bleu de quinoléine. — La meilleure manière d'employer cette substance est de la faire dissoudre dans l'alcool à 90°; on étend la solution d'une partie d'eau. Il faut se garder d'ajouter l'eau tout de suite, car le bleu ne s'y dissoudrait pas. Ce bleu a une grande puissance colorante. On peut en faire usage pour colorer des éléments isolés après macération des tissus dans l'alcool au tiers, ou bien encore pour colorer des coupes faites après durcissement des tissus par l'alcool ou l'acide picrique. Il diffère complètement dans ses effets des substances que nous venons de passer en revue. Si, par exemple, on le fait agir sur un tissu qui contient un grand nombre d'éléments divers comme le mésentère, on verra les noyaux se colorer en beau violet, les nerfs en bleu gris, les muscles lisses en bleu, le protoplasma des cellules en bleu, la graisse en bleu foncé.

Lorsque la coloration est produite, la préparation est lavée et montée dans de la glycérine. Vingt-quatre heures après, on remarque que les noyaux sont décolorés. Le protoplasma reste bleu, et dans son intérieur apparaissent des granulations d'un bleu intense. Les nerfs sont d'un bleu gris, et dans les tubes nerveux se sont produites des granulations bleues. Ces granulations sont formées par les matières grasses du protoplasma cellulaire ou de la myéline des tubes nerveux, décomposées par l'action lente de la glycérine. Le bleu de quinoléine colore en bleu intense non seulement la graisse qui est contenue dans les cellules adipeuses, les cellules du foie, etc., mais encore celle qui apparaît au moment de la digestion dans les cellules épithéliales de l'intestin.

Les préparations colorées par le bleu de quinoléine peuvent être soumises avec avantage, au moins dans quelques cas, à l'action de la potasse à 40 pour 100. L'élection de la matière colorante est alors complète et immédiate. Les noyaux sont incolores, le protoplasma cellulaire, les muscles et les nerfs sont colorés en bleu clair et la graisse en bleu foncé.

Éosine. — On emploie pour colorer les tissus avec l'éosine la solution indiquée par Fischer ou simplement une solution d'éosine primerose dans l'eau.

La solution de Fischer[1] est ainsi préparée : à de l'éosine du commerce dissoute dans l'eau, on ajoute goutte à goutte de l'acide chlorhydrique; la matière colorante se précipite. On reçoit le précipité sur un filtre, on le lave et on le reprend par l'alcool. La solution alcoolique d'éosine colore les globules rouges du sang fixés par l'alcool, l'acide picrique ou les solutions chromiques; elle colore en rouge les fibres élastiques. Les coupes de tissus ou d'organes, traitées successivement par l'hématoxyline nouvelle et l'éosine,

1. *E. Fischer.* Eosin als Tinctionsmittel für mikroscop. Praepar. (*Arch. f. micr. Anat.*, 1875, t. XII, p. 349.)

montrent une double coloration : les noyaux sont colorés en violet; le protoplasma des cellules qui les contiennent en rouge plus ou moins intense.

Safranine. — La safranine est d'un usage courant aujourd'hui dans les recherches relatives à la division indirecte des cellules. Son emploi a été vulgarisé surtout par Babès. On s'en sert en solution aqueuse concentrée ou en solution alcoolique étendue, pour colorer des coupes faites après durcissement par l'alcool ou les solutions chromiques.

Violet de méthyle BBBBB. — Le violet de méthyle BBBBB est très soluble dans l'eau; il faut le faire agir sur les tissus en solution très étendue. Des coupes de l'estomac du chien, faites dans la région pylorique et dans le grand cul-de-sac, après durcissement des tissus par l'alcool, colorées par une solution de violet BBBBB étendue, montées dans la glycérine, montrent des détails intéressants. Toutes les cellules des glandes pyloriques sont colorées en violet foncé tandis que les éléments cellulaires qui les avoisinent, en particulier les cellules épithéliales de revêtement sont beaucoup moins colorées et même, si la coloration a été faite avec ménagement, sont à peu près incolores. Les glandes du grand cul-de-sac et en général toutes les glandes du fond de l'estomac ont leurs cellules principales colorées comme les cellules pyloriques, tandis que les cellules de revêtement sont beaucoup moins colorées et peuvent même être incolores. Si, au lieu du violet de méthyle, on emploie une solution alcoolique concentrée de bleu de quinoléine, on obtient sur les glandes de l'estomac une réaction analogue; il n'y a de différence que dans la teinte de la coloration. On trouve chez les animaux dans différentes glandes, notamment dans les glandes internasales des batraciens, des cellules qui se colorent par le violet de méthyle et le bleu de quinoléine comme les cellules principales des glandes du fond de l'estomac et les cellules des glandes pyloriques. J'ai désigné la substance qui infiltre le protoplasma de ces cellules et qui présente la propriété de se colorer ainsi sous le nom de substance cyanophile.

Violet de méthylaniline. — Le violet de méthylaniline ou *violet de Paris*, en solution dans l'eau ou dans l'alcool étendu, recommandé par Cornil, donne une réaction très belle et très caractéristique de la matière amyloïde.

Vert de méthyle. — Le vert de méthyle sert aussi à déceler la matière amyloïde qu'il colore en violet intense tandis qu'il colore en vert les tissus normaux. Il s'emploie en solution dans l'eau ou dans l'alcool étendu :

Balbiani et Henneguy, puis Strasburger[1] l'ont appliqué à l'étude de la karyokinèse. Il colore en vert les filaments chromatiques des noyaux.

Je passe sur un nombre considérable de couleurs d'aniline qui ont été employées en histologie et dont on trouvera l'énumération et le mode d'emploi dans l'ouvrage de Bolles Lee et Henneguy.

Hématoxyline. — Cette substance colorante, aujourd'hui très usitée dans

1. *Manuel technique d'anatomie végétale.* Trad. Godfrin. Paris 1886.

les recherches histologiques, a été introduite dans la technique par Bœhmer[1], qui en a ainsi réglé le mode d'emploi. Il fait une première solution avec

Hématoxyline.	0,35
Alcool absolu.	10

et une seconde solution avec

Alun.	0,10
Eau distillée..	30

On verse quelques gouttes de la première solution dans la seconde, et il se produit un liquide d'un beau violet.

Hématoxyline vieille. — Au bout de quelques mois, la solution d'hématoxyline préparée par le procédé Bœhmer qui était d'abord violette prend une teinte vineuse. Dans cet état, la solution a acquis un pouvoir colorant considérable. On l'emploie de la manière suivante : ayant disposé sur la lame de verre des éléments isolés comme des fibrilles musculaires des ailes des insectes fixés d'abord par l'alcool au tiers, des fragments d'autres tissus plus ou moins complètement dissociés après avoir subi l'action du même réactif, des coupes faites après durcissement du tissu par l'alcool ou par un des procédés de durcissement précédemment décrits, on y laisse tomber une ou deux gouttes de la solution d'hématoxyline vieille que l'on vient de filtrer ou mieux à mesure qu'elle se dégage d'un petit filtre de papier. La coloration se produit avec une très grande rapidité. On juge du degré qu'elle a atteint en examinant la préparation à un faible grossissement. Lorsqu'elle est suffisante, on lave complètement, on traite par l'alcool ordinaire, l'alcool absolu, l'essence de girofle et on monte dans le baume du Canada ou la résine dammare.

Hématoxyline nouvelle. — Lorsque l'on a coloré une coupe d'un tissu ou d'un organe par l'hématoxyline vieille ou par l'hématoxyline de Bœhmer, il faut, si l'on veut que la coloration porte seulement sur les noyaux, décolorer par l'acide acétique ou l'acide chlorhydrique additionné d'eau ou d'alcool. Si l'on emploie une solution d'hématoxyline dont je vais maintenant indiquer la préparation[2], les noyaux sont colorés d'emblée à l'exclusion de tout le reste.

A mesure que la solution d'hématoxyline conservée dans un flacon prend la teinte vineuse, elle abandonne un dépôt qui encrasse les parois de ce flacon. On transvase de manière à recueillir l'hématoxyline vieille, on lave à plusieurs reprises le dépôt qui ne se détache pas de la paroi du flacon. Lorsque le lavage est complet, ce que l'on reconnaît à ce que l'eau n'est plus teintée, on la remplace par une solution d'alun à 1 pour 100 et on chauffe au bain-marie; le dépôt se dissout en donnant une belle liqueur violette que l'on filtre et à laquelle on doit ajouter, pour qu'elle se conserve, un fragment de thymol.

1. *Bœhmer*, Aerztliches Intelligenzblatt (Baiern), 1865, n° 38.

2. Sur la structure des cellules du corps muqueux de Malpighi *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1882.

On peut ajouter de la glycérine à la solution d'hématoxyline nouvelle; mais, comme cette addition lui fait perdre de sa coloration, il est bon de chauffer et d'évaporer jusqu'à ce que le liquide reprenne le volume qu'il avait avant l'addition de la glycérine.

L'emploi de l'hématoxyline nouvelle est extrêmement simple: on la fait agir directement sur la lame de verre ou bien on en met quelques gouttes dans un verre de montre et on y place les coupes que l'on veut colorer. Elle ne donne jamais de dépôt dans les tissus et son action peut être prolongée indéfiniment pour ainsi dire sans inconvénient. Elle a une élection remarquable sur les filaments chromatiques des noyaux lorsque les cellules qui les contiennent subissent la division indirecte.

Quelle que soit la solution d'hématoxyline que l'on ait employée pour colorer une préparation, la coloration ne s'y conserve pas si elle est montée dans la glycérine; au bout de quelques mois, elle a toujours complètement disparu. Si la préparation est conservée dans le baume du Canada ou dans la résine dammare, la coloration persiste pendant des mois ou des années; mais on a parfois intérêt à faire l'examen du tissu dans la glycérine et non dans le baume. C'est alors que l'hématoxyline nouvelle additionnée de glycérine peut rendre de réels services. Il suffit d'en faire passer sous la lamelle qui recouvre la préparation décolorée pour lui rendre sa coloration primitive.

Glycérine hématoxylique[1]. — Renaut a fait connaître une solution d'hématoxyline dans la glycérine qui peut servir à colorer les tissus et en même temps à en conserver les préparations.

Cette solution se prépare de la manière suivante :

De la glycérine absolument neutre, marquant 1260 au densimètre est chargée à saturation d'alun de potasse; puis on y verse goutte à goutte une solution concentrée d'hématoxyline dans l'alcool à 90°. Le mélange des deux solutions est effectué à l'aide d'un agitateur. La coloration est suffisante quand on a ajouté à la glycérine alunée un quart de son volume total de solution alcoolique d'hématoxyline. On filtre et l'on conserve dans un flacon à large ouverture obturé par un papier percé de trous. Au bout de quelques semaines, la coloration violette s'est considérablement accrue; on filtre de nouveau et la solution est prête à servir.

Éosine hématoxylique. — L'éosine hématoxylique de Renaut permet d'obtenir à l'aide d'un même réactif la coloration double par l'hématoxyline et l'éosine; on la prépare de la manière suivante :

On verse goutte à goutte une solution aqueuse concentrée d'éosine dans 200 ou 300 grammes de glycérine saturée d'alun de potasse; on filtre et on ajoute peu à peu à cette glycérine éosinée une solution alcoolique saturée d'hématoxyline. On opère exactement comme si l'on voulait obtenir de la glycérine hématoxylique; c'est-à-dire qu'on laisse évaporer pendant quelque temps et que l'on filtre.

1. *J. Renaut*, Sur le mode de préparation et l'emploi de l'éosine et de la glycérine hématoxylique en histologie. (*Arch. de Phys.*, 1881, p. 640.)

Hématoxyline de Weigert[1]. — Weigert a conseillé pour la coloration des coupes du cerveau et de la moelle l'emploi d'une solution alcoolique au dixième d'hématoxyline à laquelle on ajoute 90 parties d'eau et 1 partie d'une solution aqueuse saturée de carbonate de lithine.

Les coupes colorées à l'aide de ce mélange sont décolorées dans la solution suivante :

Eau	100
Ferricyanure de potasse	2,5
Borax	2

puis on les monte dans le baume du Canada en suivant les procédés classiques.

Pour être complet, il faudrait ajouter bien d'autres formules de solutions d'hématoxyline; on pourra consulter à ce sujet l'ouvrage de Bolles Lee et Henneguy.

Purpurine. — Pour préparer la solution de purpurine que l'on emploie dans les recherches histologiques, on met une petite pincée de purpurine pulvérulente dans une capsule de porcelaine, avec une solution d'alun à 0,5 pour 100 et l'on porte à l'ébullition. La purpurine se dissout en donnant une liqueur d'un beau rouge. On filtre et, avant le refroidissement, on ajoute de l'alcool à 90°, de telle sorte qu'il y ait un volume d'alcool pour 2 volumes de la solution. L'addition d'alcool a pour but d'empêcher la précipitation de la matière colorante qui se produirait par le refroidissement. Les éléments et les coupes de tissu que l'on place dans la solution de purpurine se colorent lentement; il est bon de les y laisser passer la nuit. Les noyaux sont alors colorés en rose, tandis que les autres parties sont incolores. Les préparations colorées à la purpurine se conservent très bien dans la glycérine; c'est là un des seuls avantages que présente la purpurine sur l'hématoxyline, et dans la majorité des cas on doit lui préférer l'hématoxyline nouvelle qui colore les noyaux d'une manière beaucoup plus intense et plus rapide.

Orcéine. — La solution d'orcéine que nous avons employée se prépare de la manière suivante :

On prend d'une part 50 grammes d'une solution d'alun à 1 pour 100 à laquelle on ajoute 10 centigrammes d'acide tartrique. On dissout d'autre part 10 centigrammes d'orcéine synthétique dans de l'ammoniaque. On mélange les deux solutions et on porte le tout à l'ébullition de manière à chasser l'excès d'ammoniaque; puis on filtre. La solution présente une teinte brune violacée et se conserve pendant des années.

Cette solution colore en brun violacé les cylindres-axes, les cellules nerveuses et les cellules de la névroglie dans les coupes de la moelle, du cerveau et du cervelet, faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque.

Molybdate d'ammoniaque. — Krause a recommandé ce réactif à la dose de 5 pour 100; en vingt-quatre heures, il colore les tissus en bleu. On

1. *Weigert*, Neue Färbungsmethode für das Centralnervensystem. (*Fortsch. d. Med.*, 1884, p. 190, et 1885, p. 236.)

obtient une coloration plus forte en faisant macérer ensuite les tissus dans l'acide gallique ou pyrogallique. Nous n'avons pas essayé ce réactif.

Carmin d'indigo (Thiersch). — On traite le carmin d'indigo (voy. plus haut, p. 54) en pâte par un mélange de :

Acide oxalique	1
Eau distillée	22 à 30

et l'on filtre le liquide. Pour avoir une solution moins colorée, il faut étendre ce bleu avec de l'acide oxalique dilué.

Iode. — L'iode constitue un réactif beaucoup plus important. La formule dont je me sers est la suivante :

Eau distillée	100
Iodure de potassium	2
Iode	q. s. pour saturer.

L'iode colore en brun à peu près tous les éléments; cependant dans le cartilage il ne colore que faiblement la substance fondamentale hyaline et la capsule, mais il teint la masse cellulaire en brun foncé. La graisse est colorée plus fortement que le protoplasma. La matière glycogène est colorée en un rouge acajou, qui tranche sur la couleur brune donnée au protoplasma. Ce réactif constitue donc un très bon moyen pour la découvrir.

Il sert aussi à déceler la matière amyloïde, qu'il colore en brun acajou; en ajoutant ensuite de l'acide sulfurique, cette coloration passe quelquefois, mais pas toujours, au bleu verdâtre.

On peut aussi employer comme réactif colorant, le sérum fortement iodé dont il a été question plus haut (voy. p. 67). Ce sérum est surtout précieux dans l'étude du tissu conjonctif embryonnaire et des éléments qui contiennent de la matière glycogène.

Nitrate d'argent. — Ce réactif, employé d'abord par Coccius, a été préconisé par His et surtout par Recklinghausen[1] qui a commencé à en régulariser l'application. Pour ce réactif plus que pour tout autre, il est indispensable de se servir d'une bonne méthode, autrement on peut obtenir les résultats les plus contradictoires. C'est parce que l'emploi n'en a pas toujours été bien réglé que l'on a tant discuté la valeur des images fournies par les imprégnations d'argent.

Le nitrate d'argent peut être employé en solution ou à l'état solide. Parlons d'abord de ce dernier procédé qui cependant est le moins usité.

Il est d'une application simple et fournit de bonnes préparations. On s'en sert avec avantage dans la préparation de la cornée, du tissu fibreux et des lames électriques de la torpille. Pour préparer la cornée, par exemple, voici comment il faut procéder : l'œil étant enlevé, un crayon de nitrate d'argent est passé rapidement sur la surface antérieure de la membrane restée en place. La cornée est détachée et placée dans l'eau distillée; l'épithélium est

1. Voyez pour l'historique : *Recklinghausen*, Zur Geschichte der Versilberungsmethode. (*Arch. de Virchow*, 1863, vol., XXVII, p. 419.)

chassé avec le pinceau. Le nitrate d'argent, dissous par le liquide qui baigne la cornée, a traversé la couche épithéliale et est venu se réduire en certains points qu'il colore en brun après l'action de la lumière. Les cellules, au contraire, sont ménagées par l'argent et restent incolores.

Le nitrate d'argent est plus fréquemment employé en solution. On fait généralement usage de la solution à 1 pour 100, à laquelle on ajoute 2, 3 ou 4 parties d'eau distillée. A cet effet, on aspire avec une pipette non graduée une quantité donnée de la solution, par exemple jusqu'à un trait fait au diamant sur le verre; cette solution est déversée dans un baquet, puis on ajoute avec la même pipette deux fois autant d'eau; on obtient ainsi une solution à 1 pour 300.

On pourra se procurer instantanément d'une façon analogue des solutions à 1 pour 400, 1 pour 500, 1 pour 1000, etc.

Lorsque l'on se propose d'imprégner une membrane mince comme le grand épiploon du chien, du lapin, du rat, etc., il faut la tendre sur un baquet de porcelaine comme la peau d'un tambour, l'arroser rapidement avec une pipette remplie d'eau distillée pour la nettoyer des albuminates et des globules blancs qui peuvent être à sa surface; puis on répand sur elle la solution de nitrate d'argent. Pour obtenir des imprégnations rapides et complètes, il est nécessaire que l'opération se fasse au soleil ou du moins à une lumière vive. Dès que le tissu, après avoir blanchi, commence à passer au gris, la membrane est détachée et portée dans l'eau distillée; après avoir été lavée, elle est placée sur la lame de verre, et l'on en fait des préparations définitives suivant les méthodes qui seront indiquées plus loin.

Si la membrane n'était pas bien tendue, l'argent se déposerait non seulement dans les espaces intercellulaires, mais partout où il y aurait le plus léger pli, et l'on ne pourrait plus se rendre compte de la forme des cellules.

Si la membrane n'était pas arrosée avec de l'eau distillée avant de l'imprégner, dans tous les points où il y aurait eu des albuminates, il se ferait un dépôt d'argent, et l'on croirait voir quelque disposition normale du tissu.

La méthode de l'imprégnation sur place est encore préférable. Pour préparer, par exemple, le mésentère d'une grenouille, le ventre est ouvert, l'intestin est tendu avec la main, et après avoir arrosé le mésentère avec une pipette remplie d'eau distillée on y laisse tomber goutte à goutte la solution de nitrate d'argent. Ce procédé a l'avantage de permettre à l'albumine et au sang qui pourraient se trouver sur le mésentère d'être entraînés par le nitrate d'argent et de ne pas occasionner sur la préparation des images trompeuses.

S'il s'agit d'imprégner une glande, par exemple la glande sous-maxillaire du chien, on y pratique, avec un rasoir trempé dans l'eau distillée, une incision franche; on obtient ainsi une surface où se trouveront les différents éléments histologiques qui constituent la glande. On fait passer sur cette surface un courant d'eau distillée, auquel on fait succéder un courant de nitrate d'argent. La surface blanchit, puis brunit; on lave à l'eau distillée.

Au moyen d'une section faite parallèlement à la surface imprégnée, on

détache une coupe que l'on peut examiner au microscope et dans laquelle les cellules glandulaires sont séparées les unes des autres par des lignes noires.

Si la solution de nitrate d'argent est trop faible, par exemple à 1 pour 500 ou à 1 pour 1000, ou si la lumière n'est pas vive, au lieu d'une imprégnation, il se produit souvent une coloration plus ou moins forte des éléments. Ce sont les noyaux des cellules qui sont généralement le plus colorés, puis le protoplasma, tandis que la substance intercellulaire ne contient que très peu d'argent.

En général, dans une bonne imprégnation, le contenu cellulaire et surtout les noyaux n'apparaissent pas.

Chlorure d'or. — Ce réactif rend de très grands services dans les recherches relatives aux terminaisons nerveuses. On l'emploie en solution seulement et à la dose de 1/2 à 2 pour 100.

Lorsque l'on suit la méthode indiquée par Cohnheim[1], l'immersion des tissus frais dans la solution et ensuite la réduction de l'or dans de l'eau légèrement acétifiée, il est rare que l'on réussisse; c'est-à-dire que les fibres nerveuses terminales soient bien colorées et avec élection. Cependant, cela arrive quelquefois et les préparations sont alors fort belles. Pour obtenir des résultats plus constants et tout aussi beaux, il faut faire usage du procédé de Loewit ou de ceux que j'ai indiqués et qui sont le procédé du jus de citron et le procédé de l'or bouilli.

Procédé de Loewit[2]. — On prépare une solution d'acide formique au tiers (acide formique 1, eau distillée 2); on en met quelques centimètres cubes dans un verre de montre, puis on y plonge des fragments de tissus ayant 1 ou 2 millimètres d'épaisseur. Lorsqu'ils sont transparents, c'est-à-dire au bout d'une demi-minute à une minute, on les porte dans un second verre de montre contenant 1 ou 2 centimètres cubes d'une solution de chlorure d'or à 1 pour 100. On les y laisse dix à quinze minutes, jusqu'à ce qu'ils soient devenus jaunes dans toute leur masse. Ils en sont alors retirés et placés dans une petite quantité d'acide formique au tiers où ils sont conservés dans un endroit complètement obscur pendant vingt-quatre heures; puis, on les place pendant vingt-quatre heures dans de l'acide formique pur, en les maintenant également à l'obscurité. On lave ensuite à l'eau distillée. Les préparations sont montées dans le baume ou dans la glycérine.

Procédé du jus de citron. — Les fragments de tissus sont placés pendant cinq ou dix minutes dans du jus de citron fraîchement exprimé et filtré sur de la flanelle. Ils y deviennent transparents. On les lave rapidement à l'eau distillée, puis on les porte dans une solution de chlorure d'or à 1 pour 100 où on les laisse séjourner de 10 minutes à 1 heure (cela dépend des tissus); après quoi on les lave de nouveau à l'eau distillée et on les place dans un flacon contenant 50 grammes d'eau distillée et deux gouttes

1. *Cohnheim*, Virchow's Archiv, 1867, vol. XXXVIII, p. 343.
2. *Loewit*, Die Nerven der glatten Muskulatur. Acad. des Sc. de Vienne, t. LXXI, 1875.

d'acide acétique. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures et sous l'influence de la lumière, la réduction de l'or est produite.

On fixe les tissus par l'alcool et on fait des préparations suivant les procédés qui seront indiqués au sujet de chaque tissu.

Procédé de l'or bouilli. — Les tissus sont traités par un mélange de chlorure d'or et d'acide formique (chlorure d'or à 1 pour 100, 4 parties, acide formique, 1 partie) porté d'abord à l'ébullition et refroidi. On les y laisse de 10 minutes à 1 heure et demie, cela dépend de l'organe et du résultat que l'on veut obtenir. Au sortir de la solution d'or, les tissus sont lavés et portés dans de l'acide formique additionné de quatre parties d'eau, où la réduction se produit à l'obscurité, ou dans de l'eau acétifiée à la lumière. Cela dépend encore des tissus et du résultat cherché.

Chlorure double d'or et de potassium. — Ce réactif, recommandé par Gerlach[1], a une action semblable à celle du chlorure d'or. Il peut être appliqué dans les mêmes conditions et à la même dose; cependant Gerlach l'a employé en doses extrêmement faibles, à 1 pour 10 000, soit pour colorer la moelle durcie dans le bichromate d'ammoniaque, soit pour faire apparaître sur des muscles frais certains détails de structure (voy. l'article Tissu musculaire).

Acide osmique. — L'acide osmique en solution (voy. p. 77) sert non seulement à durcir les tissus, mais encore à en colorer certains éléments en noir plus ou moins intense, nuancé de brun ou de bleu. C'est ainsi que sous son influence la myéline est colorée en noir bleuâtre et la graisse en noir brun. Il colore également en brun foncé la couche cornée de l'épiderme et les bâtonnets de la rétine.

Chlorure de palladium. — F. E. Schulze, qui a indiqué ce réactif, l'emploie à 1 pour 1000. Pour que la dissolution s'effectue, il faut ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Lorsqu'ils y ont séjourné de trois à quatre jours, les tissus sont assez durs, d'après cet auteur, pour que l'on puisse y faire des coupes; dans ces coupes, les muscles sont colorés en brun, tandis que la graisse est incolore.

Bleu de Prusse. — Ce procédé (Leber[2]) consiste à plonger d'abord la cornée (car c'est surtout pour cet organe que cette méthode a été mise en usage) dans du sulfate de protoxyde de fer à 1 pour 200 pendant quelques minutes, puis dans du prussiate rouge (ferricyanure de potassium) à 1 pour 100; après cela, on lave à l'eau distillée.

Éclaircissement des objets opaques. — Un point important de la technique microscopique est de rendre les objets transparents. On peut y arriver de deux façons, soit en leur faisant subir des modifications chimiques, soit en les imbibant de substances très réfringentes. — On peut combiner ces deux procédés.

Les réactifs qui rendent les tissus plus transparents en agissant sur eux chimiquement sont nombreux et sont de deux ordres : les uns sont alcalins,

1. *Gerlach*, Stricker's Handbuch, p. 678.

2. *Leber*, Ueber einige anderweitige Imprägnations Methoden der Hornhaüte. (*Arch. für Ophthalmol.*, vol. XIV, p. 300.)

comme l'eau de chaux, l'eau de baryte, la soude et la potasse très diluées, les autres sont acides comme l'acide formique, l'acide chlorhydrique, l'acide acétique. C'est l'acide acétique qui est le plus souvent employé. Ces acides agissent en gonflant certains éléments, de manière à en former une masse à peu près homogène. Ainsi les faisceaux du tissu conjonctif, plus ou moins opaques à l'état frais, sont transformés par l'action de l'acide acétique en une masse transparente où l'on distingue à peine quelques stries; le protoplasma granuleux des cellules devient aussi transparent, par suite du gonflement des grains albuminoïdes dont il est composé. Alors les éléments qui ne subissent pas ce gonflement, par exemple, les noyaux et les fibres élastiques, apparaissent beaucoup plus nettement. Il y a longtemps que l'on fait usage de ce mode d'éclaircissement; on en a même beaucoup abusé. C'est un moyen dont il ne faut user qu'avec ménagement et dans des cas spéciaux. Du reste, les acides doivent toujours être employés à des doses très faibles: autrement ils font disparaître presque tous les éléments du tissu, qui se confondent en une masse gélatineuse, au milieu de laquelle on ne reconnaît plus même la trace de la structure primitive.

Le mode d'action des substances qui rendent les tissus transparents en les imbibant est facile à comprendre au moyen d'un exemple très simple. C'est une expérience que chacun peut répéter. Si l'on prend une lame de glace transparente et qu'on la pile de manière à la briser en une quantité de petits morceaux, ces morceaux forment une masse opaque à travers laquelle la lumière ne passe pas. Cela tient à ce que les rayons lumineux qui traversent cette masse, passant alternativement à travers un fragment de verre et un petit espace rempli d'air, y sont réfractés suivant les sens les plus différents correspondant à leurs angles variés d'incidence, et finissent par se perdre en grande partie dans ces réfractions successives. Que l'on verse au contraire sur ce verre pilé du baume du Canada dissous dans le chloroforme, on verra instantanément la masse s'éclaircir et redevenir transparente. En effet, l'indice de réfraction du baume du Canada est à peu près le même que celui du verre; les rayons lumineux ne passeront donc, pour ainsi dire, que par une seule substance au point de vue optique; ils n'éprouveront que peu de déviation, et la plus grande quantité d'entre eux arrivera à l'œil de l'observateur. C'est un but analogue que l'on se propose lorsque l'on éclaircit les préparations par ce second procédé. Les tissus à examiner sont en effet composés d'éléments divers entre lesquels une grande partie des rayons lumineux se trouve suffisamment déviée pour ne plus arriver à l'œil; en interposant à ces éléments des liquides qui ont à peu près la même réfringence, on arrive à se procurer des préparations beaucoup plus transparentes. Ces liquides sont surtout la glycérine, l'essence de térébenthine, l'essence de girofle, le baume du Canada et la résine dammare.

Glycérine. — La glycérine est un très bon éclaircissant; non seulement elle pénètre entre les milieux histologiques de réfraction variée, mais encore elle infiltre ces milieux eux-mêmes et rapproche ainsi leur indice de réfraction du sien propre.

Il faut se garder de faire agir la glycérine brusquement sur des tissus frais parce qu'ils s'y ratatinent et qu'ils deviennent impropres à l'observation. En effet, la glycérine, qui est très hygrométrique, s'empare de l'eau des tissus, et ceux-ci, manquant du soutien que leur donnait le liquide interposé, reviennent sur eux-mêmes. On ne doit faire agir la glycérine pure que sur des objets qui sont déjà fixés dans leur forme, c'est-à-dire qui ont été soumis préalablement à l'action de l'un ou l'autre des réactifs durcissants ou modificateurs dont nous avons parlé plus haut. Dans les cas où les tissus ne sont pas suffisamment fixés par le réactif durcissant, il faut avoir soin que l'action de la glycérine se produise très lentement. Pour atteindre ce but, le meilleur procédé consiste à placer la coupe ou le fragment de tissu que l'on veut éclaircir sur une lame de verre dans de l'eau pure et de recouvrir d'une lamelle. Sur le bord de celle-ci, on dépose alors une ou deux gouttes d'un mélange d'eau et de glycérine à parties égales. On porte le tout sous la cloche d'une chambre humide. La glycérine se mélange peu à peu à tout le liquide de la préparation. Le lendemain, on retire la cloche et on laisse pendant vingt-quatre heures évaporer à l'air libre avant de fermer la préparation.

En général, il ne faut pas faire agir la glycérine sur des tissus frais délicats; ils y deviennent en effet si transparents au bout de quelques heures, qu'il n'est plus possible d'en distinguer les éléments.

Sur les pièces durcies par l'alcool, l'acide chromique et les autres réactifs qui obscurcissent les tissus (et ce sont ceux où elle agit avec le plus d'avantage), l'action de la glycérine se produit lentement, mais elle se poursuit longtemps, de telle sorte que des préparations opaques, qui paraissent au premier abord n'être modifiées que faiblement par la glycérine, deviennent au bout de quelque temps parfaitement transparentes.

Essence de térébenthine. — On ne peut mettre directement dans l'essence de térébenthine que des préparations sèches; si l'on y mettait des préparations humides, on les rendrait plus obscures au lieu de les éclaircir. En effet, comme l'essence de térébenthine n'est pas miscible à l'eau, il y aurait des éléments où l'eau séjournerait, et d'autres qui s'imbiberaient d'essence de térébenthine; les rayons lumineux se briseraient aux surfaces de séparation de ces milieux, et l'objet deviendrait opaque.

Il ne faut donc pas employer l'essence de térébenthine directement pour les préparations à l'eau, mais substituer d'abord à l'eau un corps qui puisse se mélanger avec l'essence. A cet effet, on commence par tremper les préparations dans un mélange d'alcool et d'eau, puis dans l'alcool ordinaire, enfin dans l'alcool absolu, et quand toute l'eau a été ainsi chassée de la préparation, on la trempe dans l'essence, qui peut alors se mêler d'abord à l'alcool et puis s'y substituer. Il est nécessaire de faire agir des mélanges d'alcool et d'eau de plus en plus forts avant d'arriver à l'alcool absolu, si l'on veut éviter le ratatinement qui se produit sur les parties délicates par l'action brusque de l'alcool. Les préparations traitées par l'essence de térébenthine deviennent si transparentes que l'on peut à peine y reconnaître le contour des éléments.

Aussi cette méthode convient-elle pour les préparations où les vaisseaux ont été injectés. Elle fait disparaître tout, excepté l'injection. Elle est aussi d'un fort bon usage pour des tissus dans lesquels on a préalablement coloré certains éléments à l'aide de réactifs divers : ainsi les noyaux et les cylindres-axes colorés par le carmin apparaissent très nettement dans les préparations éclaircies par l'essence de térébenthine.

Essence de girofle ou d'œillet. — Cette essence a un indice de réfraction plus élevé que la précédente et un pouvoir éclaircissant plus considérable. Il n'est pas nécessaire que la déshydratation des pièces par l'alcool soit aussi parfaite qu'avec l'essence de térébenthine. Elle est donc préférable, d'autant plus qu'elle a une agréable odeur.

Il ne serait pas commode de conserver les préparations dans l'une ou l'autre de ces essences sans les fermer; mais en pratiquant l'inclusion dans le baume du Canada ou dans un vernis, comme nous allons le dire, on obtient des préparations qui se conservent indéfiniment.

Baume du Canada. — Pour employer cette substance, on la dissout dans l'essence de térébenthine, ou encore dans le chloroforme ou le xylol. Suivant la quantité de chloroforme que l'on y ajoute, on peut lui donner des degrés de consistance variés.

Résine dammare. — On emploie cette résine en solution dans l'essence de térébenthine; elle a sur le baume du Canada l'avantage de ne pas présenter une teinte jaune.

CHAPITRE IX

MÉTHODES POUR INJECTER LES VAISSEAUX ET LES CONDUITS GLANDULAIRES

Les injections sont employées en histologie dans des buts différents :

1° Pour séparer les éléments les uns des autres par l'interposition de substances qui n'ont pas de formes. Nous en avons déjà parlé plus haut à propos de la dissociation (voy. p. 65), et nous y reviendrons encore à propos de quelques tissus; nous n'en reparlerons pas ici.

2° Pour conserver ou durcir des organes avant d'en faire des préparations. Lorsque les organes que l'on se propose de faire durcir ont un volume tel que la diffusion des réactifs durcissants ne pourrait s'y produire assez rapidement, on les injecte dans les vaisseaux sanguins, et ils arrivent ainsi, après avoir traversé la paroi de ces vaisseaux, aux éléments de l'organe. A côté de l'avantage d'un effet plus complet, il en est un autre qui a une grande importance, au moins dans quelques cas : c'est de fixer instantanément, pour ainsi dire, les éléments, en conservant leur forme et leurs rapports.

Les réactifs employés pour ces injections sont : l'alcool à 90°, l'alcool absolu; les solutions d'acide chromique de 2 à 5 pour 1000; les solutions de bichromate de potasse et d'ammoniaque de 2 à 5 pour 100; l'acide osmique à 1 pour 100 et à 1 pour 500, etc.

3° Pour étudier la configuration de canaux limités et les détails de leur structure. Nous indiquerons d'abord les matières que l'on injecte dans les tissus, et que l'on appelle *masses*, et les procédés employés pour les faire pénétrer.

MASSES A INJECTIONS

On ne se servait autrefois pour les injections que de masses colorées opaques, et c'est encore celles-là dont les naturalistes font généralement usage aujourd'hui. Elles permettent de suivre le trajet des vaisseaux à l'œil nu ou à la loupe, de reconnaître leur distribution et de les disséquer. Elles donnent à l'œil une impression agréable et peuvent être aussi fines que les autres; mais on ne peut pas les employer pour l'observation histologique microscopique. Nous avons vu en effet que, pour étudier complètement un tissu, il est indispensable de l'examiner à la lumière transmise et de faire varier la distance de l'objectif, de manière à se procurer successivement l'image des différents plans de la préparation et à se rendre compte, par ce moyen, de la forme et de la position relative des éléments dans un tissu (voy. p. 24). Cet examen de la préparation dans son épaisseur n'est possible que grâce à sa transparence, qui permet aux rayons lumineux partant d'un point quelconque de traverser le reste du tissu pour donner à l'œil une image nette de ce point. Si le réseau vasculaire est rempli d'une masse à injection opaque, il empêchera le passage de la plus grande partie des rayons lumineux : tous les points situés au-dessus du trajet d'un vaisseau seront indistincts à cause de l'ombre projetée par ce vaisseau; tous les points situés au-dessous d'un vaisseau seront invisibles. La préparation ne montrerait donc plus qu'un réseau de lignes noires plus ou moins fines et plus ou moins sinueuses, entre lesquelles il serait impossible de rien distinguer de net.

Les substances employées d'habitude pour ces injections sont celles que l'industrie prépare pour les peintres, et surtout les suivantes : le blanc d'argent (carbonate de plomb), le jaune de chrome, le vermillon, le bleu de Prusse. Dans les tubes où on les vend, elles ne constituent pas une masse convenable, elles sont trop épaisses; il faut les délayer avec un excipient convenable par exemple le suif, l'axonge, le vernis de copal, le mastic en larmes ou le siccatif de Courtray. Lorsque l'on fait usage des vernis, il faut avoir soin de ne pas en mettre une trop grande quantité; autrement, à mesure qu'elle sèche, la masse, revenant sur elle-même, ne remplit plus complètement les vaisseaux et donne une idée inexacte de leur calibre. Nous ne nous arrêterons pas davantage sur ces injections, dont on a cessé de faire usage.

Les histologistes n'emploient plus aujourd'hui que des masses transparentes. Quand les injections sont bien réussies, il est possible de reconnaître

de la façon la plus nette, sur une préparation, les détails de distribution et d'anastomose des vaisseaux ou des canaux injectés. Comme ces canaux sont transparents, on distingue ce qui est au-dessous d'eux, en faisant varier la distance de l'objectif. De cette façon un vaisseau peut être suivi dans toutes ses sinuosités, autant dans celles qui se présentent suivant l'épaisseur, que dans celles qui se montrent suivant la surface de la coupe; on se rend compte ainsi des rapports et de la situation des vaisseaux ou des conduits dans leurs moindres détails.

Ces masses sont composées d'une matière colorée et d'un véhicule. Les véhicules employés sont l'eau, la glycérine ou la gélatine. Avec l'eau et la glycérine, les injections restent liquides; l'inconvénient qui en résulte, c'est que, lorsque après les avoir faites on divise les tissus, le liquide colorant, au lieu de demeurer dans les vaisseaux, s'écoule au dehors. Cet écoulement se produit parce que la paroi du vaisseau n'est pas rigide; elle est au contraire souple et élastique, revient sur elle-même naturellement et chasse le liquide; il en résulte que si avant d'avoir fixé par certains réactifs la matière colorée qu'on vient d'injecter, on divise la pièce pour en conserver des portions, la masse s'écoule et les vaisseaux ne sont plus injectés qu'imparfaitement. On peut obvier à cet inconvénient par la congélation. Dès que l'injection est faite, la pièce est mise dans un mélange réfrigérant; l'eau qui y est contenue se solidifie, et l'on peut enlever dans un organe ainsi congelé après injection, le rein de l'homme, par exemple, des portions séparées dont les liquides ne s'écouleront pas et que l'on soumettra immédiatement à l'action de l'alcool ou d'autres réactifs destinés à y fixer la matière colorée et à donner au tissu la dureté suffisante pour y faire des coupes.

Si l'organe injecté est assez peu volumineux pour que l'alcool ou tout autre réactif durcissant puisse y pénétrer jusqu'au centre par diffusion, la congélation de la pièce n'est pas nécessaire; il suffit, après en avoir lié les vaisseaux, de la plonger tout entière dans le réactif, et d'attendre qu'elle soit durcie pour la diviser.

Les masses à la gélatine sont bien préférables aux masses liquides à froid, parce qu'elles donnent de plus belles préparations, et que, la pièce étant abandonnée à elle-même après l'injection, les vaisseaux sont remplis d'une substance qui ne peut s'écouler. Le seul inconvénient qu'elles présentent, c'est qu'on est obligé d'opérer avec des masses chaudes et sur des parties élevées nécessairement à la même température (30° à 40°), ce qui amène certaines difficultés dans la manœuvre toujours délicate des appareils dont on fait usage pour faire pénétrer la matière à injection.

Pour obvier à ces inconvénients, les histologistes ont songé à employer comme véhicules des substances qui, liquides à froid, deviendraient solides sous l'influence d'une certaine température ou par l'action de l'alcool et de quelques acides. Pour cela, on a tenté de faire des injections avec de l'albumine, et de la coaguler dans les vaisseaux. Mais l'albumine coagulée forme un précipité granuleux, et donne dès lors des images irrégulières. L'injection proposée par Legros, et composée d'un mélange de couleurs d'aniline et de col-

lodion, est encore moins bonne; elle diffuse dans les tissus, et lorsqu'on emploie l'alcool pour faire durcir la pièce, la matière colorante est dissoute et la diffusion augmente encore. Cette masse d'injection doit donc être rejetée complètement.

Après ces généralités sur les masses à injection, nous devons donner maintenant les procédés à suivre dans la préparation des différentes masses dont on pourra faire usage avec succès. Comme c'est, pour la très grande part, de la qualité de la masse que dépend la réussite d'une injection, il est indispensable d'apporter le plus grand soin dans sa préparation, en suivant exactement tous les détails que nous allons indiquer. Les procédés à employer varient suivant que les masses sont colorées avec du carmin, du bleu de Prusse ou du jaune de chrome. C'est pour cela que nous les diviserons, non pas suivant les véhicules, mais suivant les matières colorantes.

Masse au carmin. — Le point important à observer dans la fabrication d'une masse au carmin, c'est qu'elle soit aussi complètement neutre que possible. En effet, pour peu qu'elle soit ammoniacale, elle diffuse dans les tissus; si, au contraire, il y a un excès d'acide, le carmin se précipite en granulations, et l'injection est opaque par places et ne pénètre qu'incomplètement dans les petits vaisseaux.

Voici le procédé dont nous nous servons pour obtenir cette neutralisation complète. Nous supposerons, dans ce qui va suivre, des quantités déterminées de carmin et de gélatine pour la préparation d'une masse d'un volume également déterminé; mais il serait facile de prendre des quantités plus ou moins considérables de ces substances dans les mêmes proportions pour obtenir une masse du volume que l'on désire.

On prend d'une part 2gr,50 de carmin que l'on broie avec un peu d'eau distillée, de manière à en faire une boue que l'on met dans un flacon; on ajoute goutte à goutte à cette boue de l'ammoniaque jusqu'à ce que le carmin soit dissous, ce qui se reconnaît à ce que la liqueur devient transparente. Le flacon est ensuite bouché et agité de manière à rendre le liquide homogène dans toutes ses parties. D'autre part, on pèse 5 grammes de gélatine sèche (gélatine fine, dite de Paris), que l'on plonge dans de l'eau distillée pendant une demi-heure à une heure; au bout de ce temps, elle est un peu gonflée et tout à fait molle; on l'en retire avec une pince, on la lave soigneusement à l'eau distillée, on la laisse égoutter, puis on la met dans une petite éprouvette plongée dans un bain-marie.

Lorsque la gélatine est fondue dans l'eau qu'elle avait absorbée, on y verse lentement et en remuant constamment la solution de carmin que l'on avait préparée. On obtient de cette façon une solution ammoniacale de carmin dans la gélatine; lorsque l'opération est terminée, on doit en avoir environ 15 centimètres cubes.

Tandis que le mélange carminé est maintenu dans le bain-marie, on fait dans un flacon une solution de :

Eau distillée	2
Acide acétique cristallisable	1

Cette solution d'acide acétique est versée goutte à goutte dans la masse en remuant continuellement le mélange avec une baguette de verre. L'acide acétique est destiné à neutraliser l'excès de l'ammoniaque. Cette partie de l'opération exige beaucoup d'attention et de soin pour arriver à la neutralisation complète.

C'est par l'odeur que l'on reconnaît le moment où il faut cesser d'ajouter de l'acide acétique. Le mélange carminé exhale, surtout à chaud, une forte odeur d'ammoniaque; à mesure que l'on ajoute de l'acide acétique, cette odeur diminue, et il arrive un moment où elle est transformée en une odeur sure. C'est le moment où il faut s'arrêter. Pour y arriver plus facilement, il est bon d'étendre, à la fin de l'opération, la solution d'acide acétique avec de l'eau, afin de mieux mesurer et de verser de plus petites doses d'acide à la fois. En examinant la liqueur au microscope, on reconnaît qu'on a dépassé le point de saturation, à la présence de granulations de carmin. Dans ce cas, on peut considérer la masse comme perdue.

Un histologiste exercé à cette opération arrive presque à coup sûr à cette neutralisation parfaite. Du reste, il est impossible de l'obtenir autrement. Il ne faut pas avoir confiance dans certaines formules d'injections au carmin dans lesquelles quelques auteurs ont indiqué des proportions d'ammoniaque et d'acide acétique qui doivent se neutraliser. Les solutions d'ammoniaque que l'on a dans les laboratoires présentent en effet des richesses très différentes.

D'autres auteurs, Frey par exemple, ont proposé de déterminer d'abord la quantité d'un acide acétique connue nécessaire pour neutraliser une quantité donnée de l'ammoniaque dont on se sert. Connaissant la quantité d'ammoniaque employée pour dissoudre le carmin, il suffirait d'ajouter la quantité d'acide nécessaire pour la neutraliser; mais, comme il arrive souvent que la gélatine du commerce est acide, on arriverait, dans ce cas, en suivant exactement cette méthode, à dépasser le point de neutralisation.

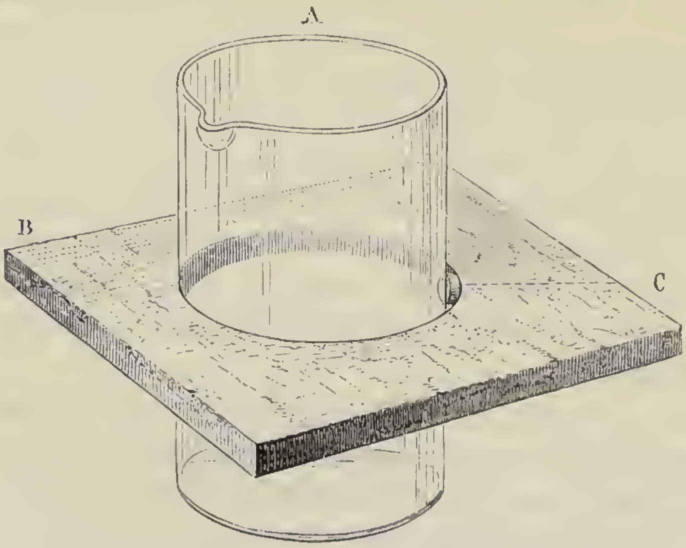


Fig. 41. — Vase pour préparer les masses d'injection à la gélatine.

Après cette digression nécessaire, nous terminons ce qui est relatif à la préparation de notre masse carminée. Lorsqu'elle est bien neutre, elle est filtrée sur de la flanelle. Cette flanelle doit être neuve, bien feutrée; la flanelle vieille aurait trop de lacunes. Il faut avoir soin de la conserver dans une armoire fermée, à l'abri de la poussière. Insistons encore sur un point essentiel : les vases dans lesquels

on fait toutes ces opérations doivent être extrêmement propres; la meilleure forme à leur donner est celle d'un cylindre muni en haut d'un petit bec : on a de cette façon l'avantage de pouvoir y agiter le liquide et de le verser facilement.

Pour plonger ce verre dans un bain-marie, on le maintient dans un petit plateau de liège B (fig. 41) percé d'un trou, et on l'y cale au moyen d'un morceau de moelle de sureau C. De cette façon, on est assuré que le verre ne se renverse pas, comme il pourrait le faire s'il portait sur le fond du vase, lorsqu'une bulle de vapeur viendrait le soulever.

Ces précautions peuvent paraître minutieuses, mais elles sont indispensables pour assurer la réussite de l'injection[1].

Ce que l'on vient de lire sur la préparation de la masse de carmin à la gélatine est le texte de la première édition de cet ouvrage. Depuis sa rédaction, j'ai fait un grand nombre d'injections, et la pratique m'a conduit à reconnaître qu'il n'est pas indispensable que l'ammoniaque soit absolument neutralisée, si la masse renferme la plus grande quantité possible de gélatine.

Aujourd'hui, j'emploie le procédé suivant, qui est beaucoup plus simple et qui est toujours suivi de succès : dans un flacon à large ouverture, bouché à l'émeri et de 250 grammes, je mets du carmin en fragments, j'ajoute de l'eau distillée de manière à l'humecter seulement, et, le lendemain, j'y fais tomber goutte à goutte de la solution d'ammoniaque; j'agite jusqu'à dissolution complète du carmin. Cette solution, mise de côté, sert ensuite à pré-

1. Cette masse à injection carminée est la seule que nous employions et que nous puissions recommander; nous ne citerons ici que pour mémoire les deux suivantes :

Masse carminée de Gerlach. — On prend d'une part :

Carmin.	5
Eau distillée.	4
Ammoniaque.	0,50

et d'autre part :

Gélatine.	6
Eau distillée.	8

On mélange à chaud et l'on ajoute quelques gouttes d'acide acétique.

Masse carminée de Beale à la glycérine. — On prend :

Carmin.	0,25
Ammoniaque.	5 à 6 gouttes.
Glycérine.	15 grammes.

Le carmin est dissous d'abord dans l'ammoniaque, ensuite on ajoute la glycérine; puis on prépare un mélange de :

Glycérine.	15 grammes.
Acide acétique.	8 à 10 gouttes.

On mêle le tout, et l'on ajoute le mélange suivant :

Glycérine.	15 grammes.
Alcool.	5gr,5
Eau.	10gr,6

Nous avons essayé ce liquide, mais il nous a donné de mauvais résultats; les vaisseaux sont remplis de granulations, et toute la masse du tissu est colorée par diffusion.

parer plusieurs masses. Lorsque l'on veut faire une injection, on fond de la gélatine simplement ramollie dans l'eau distillée et on y ajoute de la solution de carmin jusqu'à ce qu'elle ait pris une belle couleur rouge; puis, en remuant avec un agitateur, on verse goutte à goutte et très lentement de l'acide acétique étendu d'eau et on s'arrète dès que l'on voit se produire les premières traces d'un précipité et dès que l'odeur n'est plus franchement ammoniacale. On passe sur de la flanelle et la masse est préparée. Comme elle est colloïde au plus haut degré, elle ne diffuse pas.

Masse au bleu de Prusse. — Il faut employer pour les injections le bleu de Prusse soluble.

Les histologistes sont encore obligés de préparer eux-mêmes le bleu de Prusse soluble, parce qu'il ne se trouve pas dans le commerce. Voici comment il faut procéder pour cela :

On prend une solution concentrée de sulfate de peroxyde de fer dans l'eau distillée, et on la verse lentement dans une solution concentrée de prussiate jaune de potasse; il se précipite du bleu de Prusse insoluble. A la fin de l'opération, il doit rester un excès de prussiate de potasse dans la liqueur, ce dont on s'assure en en prenant une petite portion et en constatant qu'une nouvelle goutte de sulfate de fer y donne encore un précipité. On filtre alors sur une *chausse* de feutre. Au-dessous de celle-ci est disposé un entonnoir de verre avec un filtre de papier. Le liquide coule d'abord clair et jaunâtre dans l'entonnoir inférieur. On ajoute par petites quantités de l'eau distillée dans la chausse et l'on continue à laisser filtrer; peu à peu le liquide sort de la chausse légèrement teinté de bleu, mais au-dessous du second filtre il ne présente pas cette coloration. On continue ainsi pendant plusieurs jours à ajouter de l'eau distillée dans la chausse, jusqu'à ce que le liquide bleuisse au-dessous du second entonnoir, dans le flacon disposé pour cela. A ce moment le bleu de Prusse est devenu soluble. Pour le recueillir, il faut retourner la chausse et l'agiter dans l'eau distillée. Le bleu s'y dissout, si la quantité d'eau est suffisante. La solution, qui est fortement colorée, peut être conservée ainsi pour les injections, mais il est plus commode d'avoir une provision de bleu de Prusse soluble à l'état solide. Pour l'obtenir, il suffit d'évaporer à l'étuve. On le conserve dans des flacons. Lorsqu'on veut s'en servir, on le dissout dans l'eau distillée; il donne alors un liquide fortement coloré en bleu, qui, abandonné à lui-même après avoir été filtré, ne forme pas de dépôt.

Il est nécessaire que la solution de bleu soit saturée; pour atteindre ce but, on prend un flacon d'un litre de capacité, rempli d'eau distillée, et l'on y met du bleu en grand excès; il forme alors au fond du flacon une masse boueuse. A mesure que l'on en a besoin, on prend de la portion liquide et on la remplace par de l'eau distillée, qui dissout de nouvelles quantités de bleu. De cette façon, on a toujours sous la main une solution de bleu parfaitement saturée[1].

1. Dans un petit travail paru en 1866 (*Erfahrungen über das lösliche Berlinerblau als Injectionsfarbe*, Archiv für microsc. Anatomie, 1866, p. 87), Brücke, après avoir dit que

Le bleu de Prusse ainsi préparé peut être injecté tel quel; jamais il ne transsude à travers les parois des vaisseaux. On peut aussi le mélanger avec de la glycérine.

Si l'on emploie la gélatine, il suffit d'en mettre une petite quantité; voici par exemple de bonnes proportions :

Bleu soluble.	25
Gélatine solide.	1

Pour que le mélange se fasse bien, il est nécessaire de suivre exactement la marche que nous allons indiquer. Après avoir pesé la gélatine, on la met dans un vase rempli d'eau pendant une demi-heure à une heure; quand elle est ramollie et gonflée, elle est lavée à l'eau distillée, puis plongée dans une éprouvette et chauffée au bain-marie; elle fond dans l'eau qu'elle avait absorbée. Le bleu de Prusse est mis dans une autre éprouvette plongée dans le même bain-marie, de manière que les deux liquides soient à la même température. Le bleu est alors versé peu à peu dans la gélatine, et le mélange, qui reste plongé dans le bain-marie, est remué continuellement avec un agitateur de verre. On continue à chauffer et à agiter jusqu'à ce que le précipité grumeleux qui se forme au premier moment ait disparu. On constate que le bleu est parfaitement dissous, lorsque la baguette de verre retirée du liquide ne présente pas de granulations bleues à sa surface. Le mélange est alors filtré sur un morceau de flanelle neuve et recueilli dans une éprouvette bien nettoyée. Puis il est remis au bain-marie à la température de 40° environ, jusqu'à ce qu'on en remplisse la seringue ou l'appareil à injections.

Il y a des gélatines avec lesquelles il se produit un précipité persistant, il faut les rejeter absolument; mais il faut bien savoir que le précipité qui se forme, même avec la meilleure gélatine, disparaît quand on continue de chauffer. C'est là un point qu'il est essentiel de connaître lorsqu'on fait des injections au bleu de Prusse et à la gélatine[1].

c'est Schrœder van der Kolk le premier, et Ludwig ensuite, qui ont employé le bleu soluble dans les recherches histologiques, donne deux formules pour le préparer. La première consiste à faire deux solutions, l'une, faible, de perchlorure de fer, l'autre, concentrée, de prussiate jaune, et à verser la première dans la seconde, en remuant constamment. L'opération doit être faite de telle sorte que la quantité de perchlorure de fer ne soit que le dixième du prussiate jaune. Le tout est jeté dans une chausse à filtrer; le liquide bleu qui s'écoule est rejeté sur la chausse jusqu'à ce que le liquide filtré ne soit plus bleu. Puis on met de l'eau sur le filtre, et l'on en ajoute à mesure que la filtration se poursuit, jusqu'à ce que le liquide passe bleu. On laisse égoutter complètement; le contenu pâteux de la chausse, versé sur du papier à filtrer et soumis à la presse, donne un bleu de Prusse soluble. — Le second procédé, applicable pour de petites quantités, consiste à prendre une solution de ferrocyanure de potassium, telle qu'un litre contienne 217 grammes de sel, et une solution de chlorure de fer contenant une partie de chlorure de fer sec du commerce pour 10 parties d'eau. On prend des volumes égaux de ces deux solutions, et l'on ajoute à chacune le double de son volume d'une solution saturée à froid de sulfate de soude. Ensuite la solution de chlorure de fer est versée dans le ferrocyanure, tandis que l'on remue constamment. Le précipité, recueilli sur un filtre et traité comme ci-dessus, donne un bleu parfaitement soluble.

1. Voici quelques formules qui ont été conseillées dans les livres de technique; mais les résultats qu'on obtient avec ces masses sont bien inférieurs à ceux que donne le bleu de Prusse soluble.

Masse jaune au chromate de plomb. — Cette masse se prépare, d'après Thiersch[1], de la façon suivante :

On prend une partie d'une solution à 1 pour 10 de chromate de potasse, et l'on y ajoute 4 parties d'une solution de gélatine concentrée; d'autre part, on prend 5 parties d'une solution d'azotate de plomb à 1 pour 10, et l'on y ajoute également 4 parties de gélatine. On mélange à chaud ces deux solutions l'une avec l'autre en remuant constamment, et l'on continue de chauffer pendant une demi-heure et plus; puis on filtre sur de la flanelle.

Masses au nitrate d'argent. — On fait des injections au nitrate d'argent dans le but de démontrer la structure de la paroi des vaisseaux ou des conduits glandulaires.

Ces injections se font :

1° Avec une solution de nitrate d'argent à 1 pour 300 ou à 1 pour 500;

2° Avec un mélange d'une solution de gélatine dans l'eau distillée et d'une solution de nitrate d'argent :

Solution concentrée de gélatine.	2. 3 ou 4 parties.
Solution de nitrate d'argent à 1 pour 100.	1 partie.

Une troisième méthode consiste à injecter d'abord une solution aqueuse de nitrate d'argent, et ensuite une solution de gélatine chaude simple ou colorée avec du bleu de Prusse soluble.

Masse bleue de Thiersch (Archiv. für mikrosk. Anatomie, 1865, p. 148) :

On fait une solution :

A. De sulfate de peroxyde de fer concentrée à froid;
B. De prussiate jaune de potasse également concentrée;
C. D'acide oxalique à saturation;
D. De gélatine concentrée.

On fait un mélange de :

D. Solution de gélatine.	4 grammes;
A. Sulfate de peroxyde de fer.	6 centim. cubes.

Un second mélange de :

D. Solution de gélatine.	8 grammes;
B. Prussiate jaune.	12 centim. cubes;
C. Acide oxalique.	12.

On ajoute ces deux mélanges à chaud, et on filtre sur de la flanelle.

Bleu de Richardson. — Voici la formule de ce bleu :

On prend *A*.	Eau.	50 grammes.
	Sulfate de peroxyde de fer.	0gr,50
Et *B*.	Eau.	50
	Prussiate jaune de potasse.	1

On mélange ces deux solutions, et l'on ajoute :

Glycérine.	15 grammes.
Alcool.	3,5
Eau.	10,6

Nous avons préparé ce mélange; il forme un précipité et des granulations

1. *Thiersch*, Arch. für mikrosk. Anatomie, 1865, p. 148.

Nous reviendrons plus en détail sur l'application de ces méthodes lorsque nous parlerons des vaisseaux.

PROCÉDÉS POUR FAIRE PÉNÉTRER LES INJECTIONS

Il y a deux méthodes à l'aide desquelles on fait pénétrer les masses d'injection dans les tissus : la *méthode mécanique*, au moyen de laquelle on pousse les substances dans les canaux, et la *méthode physiologique*, dans laquelle on utilise, pour les y faire pénétrer, l'impulsion cardiaque ou les sécrétions glandulaires.

Injections avec la seringue. — L'instrument le plus usité et le plus simple est la seringue ; on en fait de laiton, de maillechort, d'argent ou de verre monté sur métal.

Une bonne seringue doit être courte et large, afin que l'on puisse pénétrer jusqu'au fond avec le doigt pour la nettoyer; nous nous servons du modèle représenté fig. 42. Avec la seringue, il faut avoir un jeu complet de canules, depuis les diamètres les plus fins jusqu'à ceux de 2 à 3 millimètres; autant que possible, elles doivent être munies à leur extrémité d'un arrêt; elles doivent porter une gorge sur laquelle on peut attacher les fils des ligatures (voy. plus loin : Manière de fixer la canule). Les canules qui s'adaptent à frottement sont préférables à celles qui se vissent sur la seringue, parce que l'occlusion est plus certaine et l'adaptation plus rapide et plus commode. On fait aussi usage de canules de verre qui sont reliées à la seringue par l'intermédiaire d'un tube de caoutchouc.

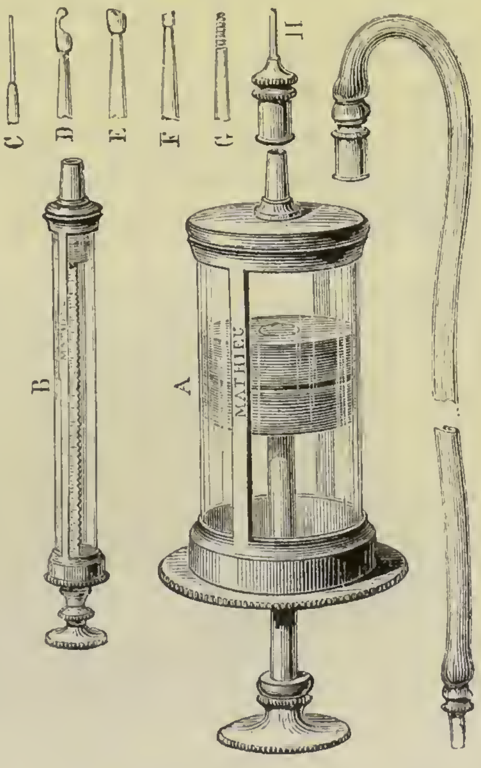


Fig. 42. — Modèles de seringues pour les injections microscopiques.

Avant de se servir d'une seringue, il est nécessaire d'en examiner attentivement toutes les parties. Il faut qu'elle soit parfaitement propre ainsi que la canule; que le piston fonctionne facilement et ferme bien; que la canule soit bien ajustée. En outre, il faut avoir sous la main les accessoires nécessaires, des pinces à pression continue, des pinces ordinaires et du fil à ligature.

Pour bien faire, il faut savoir à peu près la quantité de masse qui sera nécessaire pour injecter complètement un organe, une portion d'animal ou l'animal entier; c'est une notion qui ne s'acquiert que par l'habitude. Voici cependant quelques exemples :

Pour injecter un doigt d'homme, il faut 2 à 3 centimètres cubes de liquide; pour un rein de lapin, 3 à 5 centimètres cubes; pour un rein de chien, 10 à 12 centimètres cubes; pour un lapin entier, 250 à 300 centimètres cubes.

On peut procéder de deux façons : ou bien fixer d'abord la canule dans le vaisseau et y adapter ensuite la seringue; ou bien adapter la canule à la seringue et fixer le tout ensemble au vaisseau.

Dans le premier cas, quand on fixe d'abord la canule, il faut prendre de grandes précautions pour qu'il n'y reste pas d'air, afin de n'en pas introduire dans les vaisseaux. L'expérience a prouvé que, lorsque des bulles d'air sont mélangées à un liquide qui circule dans des tubes capillaires, il faut une pression considérable pour faire cheminer ce liquide. Jamin a démontré que s'il faut, par exemple, une force de 1 pour faire cheminer un index de mercure, il faudra, pour faire avancer deux index, une force de 2; trois index, une force de 3, etc., quelle que soit la longueur des index et celle des bulles d'air intermédiaires. On voit qu'il suffirait de peu de bulles d'air pour nécessiter une pression très grande sous l'effort de laquelle les vaisseaux se rompraient. Pour éviter ce danger, il faut remplir la canule une fois fixée, soit avec la masse à injection, soit simplement avec de l'eau distillée, ce qui est beaucoup plus commode et n'offre pas d'inconvénients.

Dans le second cas, il y a un peu plus de difficulté à placer la canule, mais on n'est pas exposé au danger de l'introduction de l'air.

La manière de fixer la canule est un point important à noter. Quand on a découvert le vaisseau ou le conduit dans lequel on veut faire l'injection, on y attache un fil lié solidement de manière qu'il ne puisse pas glisser, et en tirant sur ce fil, on tend le vaisseau; puis avec des ciseaux fins et bien tranchants, on y fait une incision en bec de flûte; on agrandit cette ouverture au moyen d'une incision longitudinale, et, en passant le doigt sous le vaisseau, on fait écarter les parois de cette ouverture de manière à l'entre-bâiller. On a ainsi une gouttière dans laquelle la canule est introduite, et où elle est fixée au moyen d'un fil à ligature.

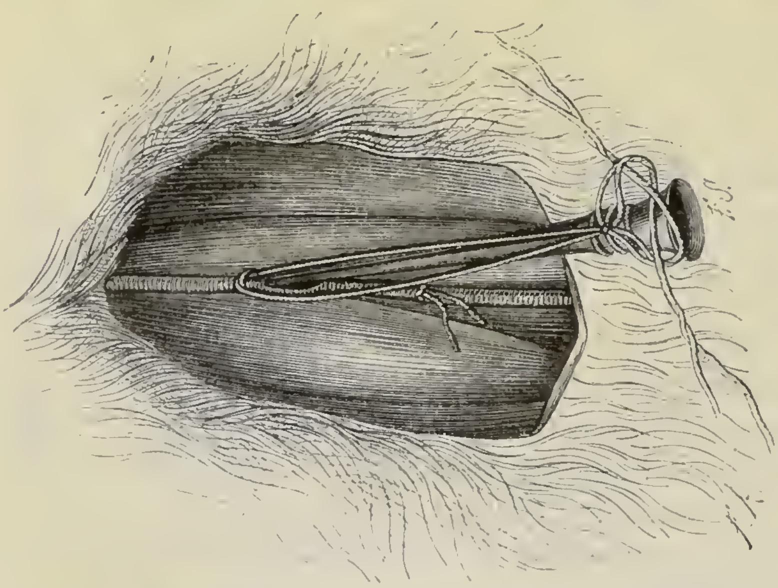


Fig. 43. — Manière de fixer une canule dans la carotide du lapin.

La plupart des canules sont munies à cet effet, à leur extrémité, d'un petit arrêt où le fil est retenu; mais les canules de verre et les canules métalliques

les plus fines n'ont pas cet arrêt, et une ligature simple ne les maintiendrait pas suffisamment, car elle pourrait glisser sur la surface conique ou cylindrique de la canule et la laisser sortir du vaisseau. Pour éviter cet accident, les deux bouts du fil avec lequel on a fait la ligature sont ramenés le long de la canule et tendus, puis liés sur la gorge de cette canule avec un autre fil que l'on y attache au moyen d'un nœud (fig. 45). Puis on tord ensemble l'un des bouts du fil à ligature avec l'un des bouts du fil noué autour de la gorge : on fait de même pour les deux autres fils, et l'on noue ensemble les deux nouveaux liens ainsi formés : de cette façon la canule est solidement fixée.

Si l'on injecte à froid, il n'y a pas d'autre précaution à prendre que de pousser lentement le piston de la seringue en se réglant sur les modifications qu'on voit se produire dans l'objet. La veine laissée libre donne issue d'abord à du sang, ensuite à la masse à injection ; on reconnaît ainsi que la masse s'est substituée au sang. Alors on lie la veine, et on continue d'injecter avec beaucoup de précautions ; puis on place une ligature au-dessous de la canule, et la pièce est mise dans des liquides appropriés pour la faire durcir : l'alcool, si l'injection a été faite au carmin ; l'alcool, le liquide de Müller, l'acide picrique, si elle a été faite au bleu de Prusse.

Lorsque la masse est à la gélatine, on est obligé d'injecter à chaud ; il convient de ne pas dépasser 45°, pour ne pas altérer les tissus. Dans les injections vasculaires des muscles, il ne faut même pas arriver à cette température, parce que, la myosine se coagulant à 40°, il se produirait de la rigidité cadavérique. Lorsque les muscles sont rigides, leurs vaisseaux se laissent difficilement pénétrer.

Pour faire les injections à chaud, un bon procédé consiste, lorsque l'animal ou l'organe séparé ne sont pas très volumineux, à placer d'abord la canule dans l'artère que l'on a mise à découvert, à y fixer la seringue, et à mettre le tout ensemble dans un grand vase métallique rempli d'eau froide. On élève graduellement la température du tout, et lorsqu'on est arrivé au degré voulu, on pousse l'injection comme si c'était une masse froide.

Si l'on doit injecter un petit mammifère tout entier, on peut procéder de la manière suivante :

L'animal étant solidement immobilisé par un des procédés indiqués à la page 48, on ouvre l'artère ; il se produit ainsi une hémorrhagie rapidement mortelle. On introduit la canule par l'artère ouverte et on pousse la masse avant que l'animal soit refroidi. Cette manière de procéder ne peut être suivie que si l'on emploie la masse de bleu de Prusse à la gélatine (1 gramme de gélatine sèche pour 25 grammes de solution de bleu), parce qu'elle est encore liquide à 25°.

La seringue est aussi employée pour faire les injections des lymphatiques ; mais, comme ces vaisseaux sont beaucoup trop étroits pour y introduire une canule ordinaire, on essaye de pénétrer dans leur calibre avec une canule très fine à extrémité en biseau tranchant. Du reste, les détails de cette opération seront indiqués à propos des vaisseaux lymphatiques.

Injection par pression continue. — Ludwig a le premier imaginé de faire pénétrer les masses d'injection liquides à chaud par une pression lente et continue. L'appareil dont il se servait (fig. 44) consiste en un flacon à large ouverture fermé par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous; ce flacon est rempli complètement par la masse à injection. Dans l'un des trous du bouchon est fixé un tube vertical, terminé en haut par un entonnoir et plongeant jusqu'au fond du flacon; l'autre tube, qui communique avec la canule fixée au vaisseau, se termine à la partie supérieure du flacon. On verse dans l'entonnoir du mercure qui vient déplacer la matière à injection; celle-ci est ainsi poussée dans le second tube et par là dans l'objet à injecter.

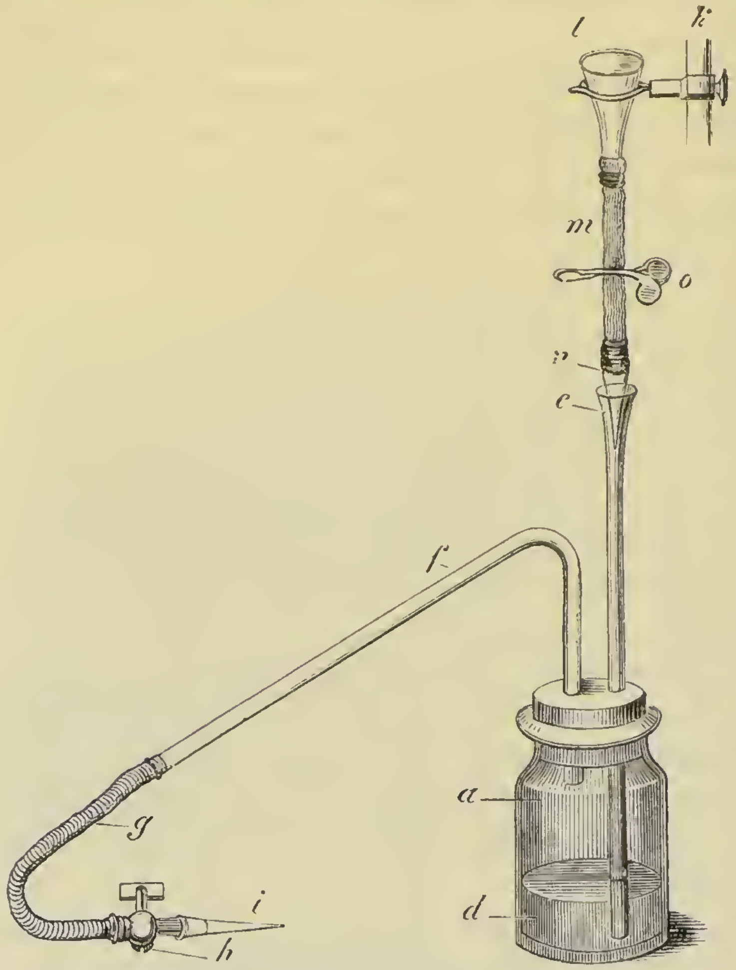


Fig. 44. — Appareil de Ludwig, pour les injections avec la pression du mercure.

Cet appareil a deux défauts importants : le premier, c'est que le mercure est en contact direct avec la masse, et que, s'il n'est pas parfaitement pur, ses scories viennent la salir; le second, c'est que son niveau baisse dans l'entonnoir au fur et à mesure de l'opération, et que, pour entretenir une pression constante, il faut en verser incessamment de nouveau.

Hering a proposé un autre appareil fondé sur le principe de la pompe à mercure, mais un peu compliqué. Celui dont nous nous servons et que nous allons décrire est analogue à celui de Hering, mais plus simple, et peut être construit facilement avec les éléments dont on dispose dans tous les laboratoires, un support, des boules de verre, des tubes de caoutchouc et des flacons.

Il se compose (fig. 45) d'un vase à deux tubulures contenant la masse à injection; par une des tubulures passe un tube de verre qui plonge jusqu'au fond du vase et qui est en rapport avec la canule et l'objet à injecter au moyen d'un tube de caoutchouc. L'autre tubulure reçoit un tube destiné à transmettre la pression sur la masse à injection; cette pression s'exerce par l'intermédiaire de l'air. Elle est obtenue au moyen d'un appareil composé de

deux ballons munis chacun de deux tubulures opposées et communiquant entre eux au moyen d'un tube de caoutchouc. On remplit de mercure l'un des ballons A et le tube qui les réunit, et l'on relie le ballon B au tube C par un tube de caoutchouc. Si alors on élève la boule A, on voit que le mercure se rendra dans la boule B, et refoulera l'air sous une pression représentée par la colonne de mercure; cette pression, que l'on peut graduer à volonté, s'exercera sur la masse à injection pendant aussi longtemps que l'on voudra, et la fera pénétrer. La hauteur de pression se mesure en visant par-dessus le niveau du mercure la tige du support. Cette tige est graduée, et l'on

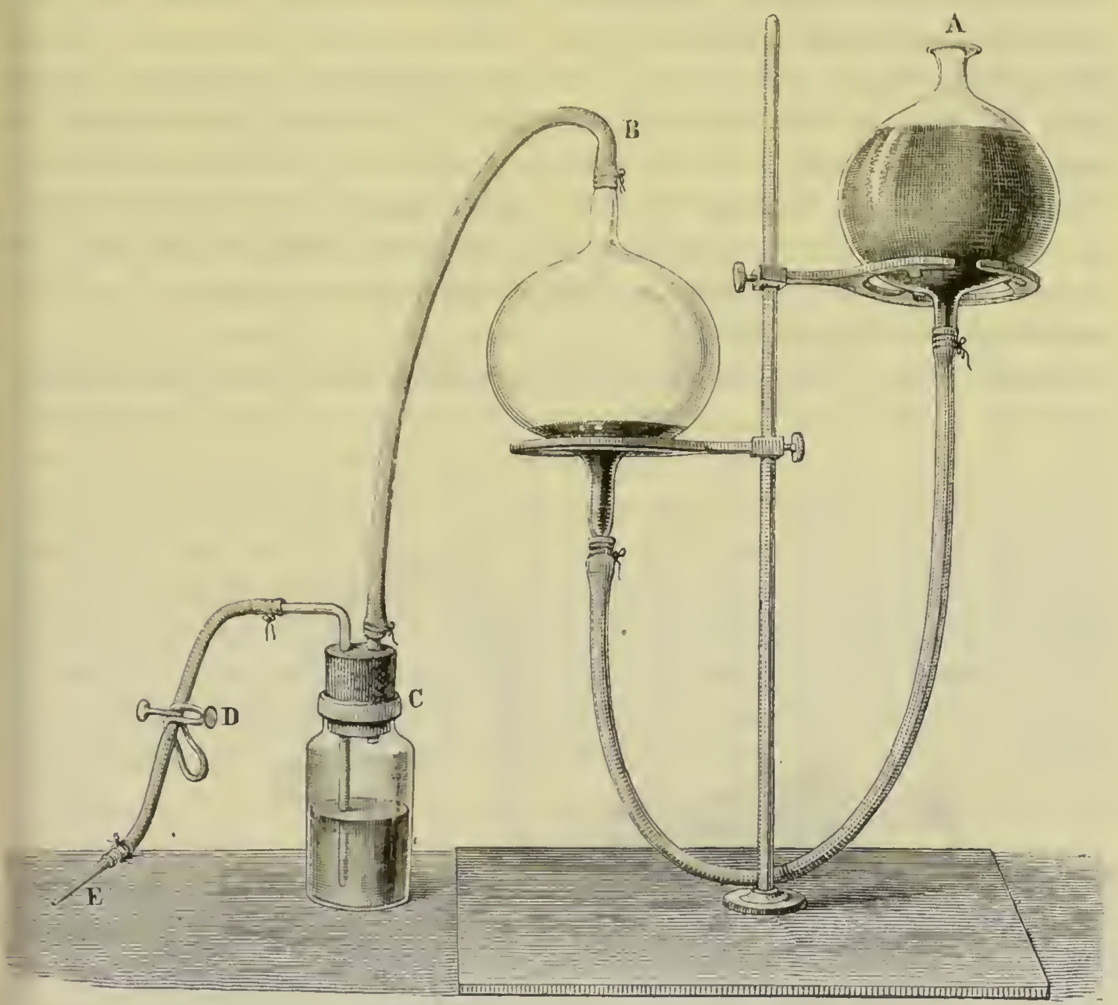


Fig. 45. — Appareil à mercure, pour faire les injections par pression continue.

obtient de cette façon en centimètres la différence entre les niveaux du mercure dans les deux ballons.

Il est une précaution importante à prendre avec cet appareil : tout le système de tubes qui va depuis le flacon jusqu'à la pièce à injecter doit être exactement rempli de la matière à injection. Si la masse est préparée avec de la gélatine, le flacon qui la contient et la pièce à injecter seront plongés ensemble dans de l'eau chaude.

Autres appareils pour faire les injections. — Aujourd'hui, la pratique m'a conduit à employer simplement une grande seringue, dite à hydrocèle, pour faire les injections par pression continue. Cette seringue qui ne doit

jamais contenir que de l'air a un piston bien graissé et dont le bon fonctionnement est ainsi assuré. Elle est mise en rapport avec un flacon à deux tubulures, contenant la masse, à l'aide d'un tube en caoutchouc, comme pour l'appareil à boules de la figure 45; mais sur le trajet de ce tube se trouve placé un tube de verre en T qui le met en rapport avec un manomètre. En pressant plus ou moins sur le piston de la seringue, on établit et on maintient dans tout l'appareil la pression que l'on veut 1, 2, 3 centimètres de mercure par exemple.

Avec une seringue ordinaire, un flacon à deux tubulures, comme celui qui a été indiqué plus haut et un robinet à trois voies, il est encore facile de construire un appareil commode pour pratiquer les injections. Le flacon étant rempli de la masse, le tube destiné à transmettre la pression de l'air porte sur son trajet un robinet à trois voies et est adapté à la seringue. On aspire avec la seringue l'air extérieur, puis on tourne le robinet, et l'on envoie cet air dans le flacon où il vient exercer sa pression sur la matière à injecter. On peut recommencer la même manœuvre autant de fois que l'on voudra, et faire ainsi pénétrer, à l'aide d'une petite seringue, une grande quantité de masse à injection.

Un petit appareil très commode pour injecter avec la seringue des liquides

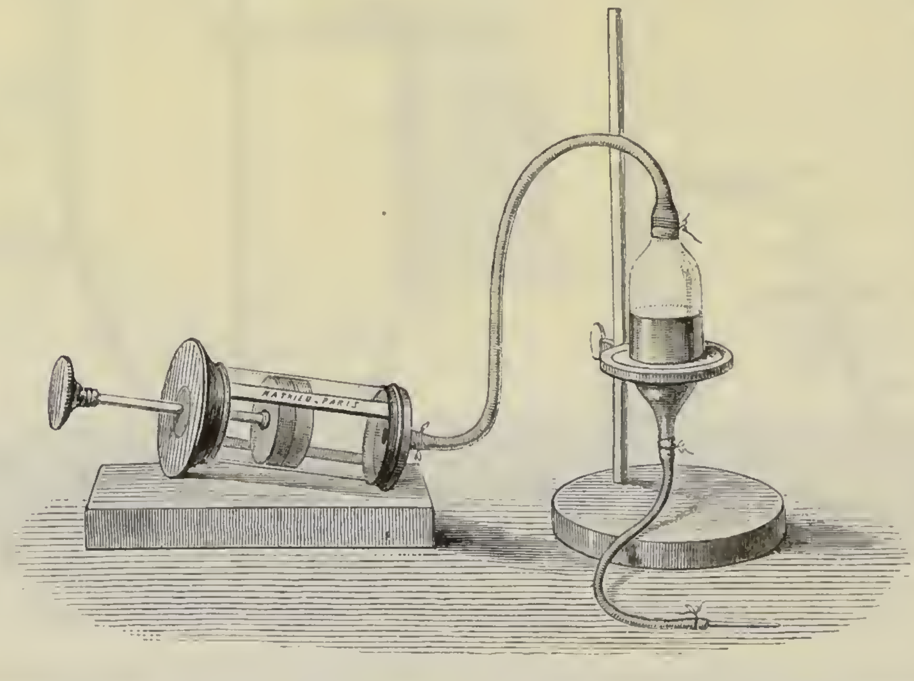


Fig. 46. — Appareil à injection, pour les liquides qui attaquent le métal ou le piston de la seringue.

qui attaquent le métal ou le piston de celle-ci est représenté fig. 46. Il est essentiellement formé par la boule d'une large pipette dont la tubulure supérieure est mise en rapport avec la seringue par un tube de caoutchouc, la tubulure inférieure, avec un tube muni de la canule. L'aspiration et la propulsion du liquide se font par l'intermédiaire de l'air; ce dernier fluide pénètre seul dans la seringue

Lorsqu'il s'agit d'injecter des organes entiers dont la circulation pourrait,

par exemple, offrir un intérêt particulier au point de vue pathologique, on n'a pas besoin de posséder les appareils que nous venons de décrire, il est facile d'en construire soi-même à peu de frais.

A l'extrémité inférieure d'un entonnoir de verre est fixé un tube de caoutchouc long d'un mètre et demi au moins (on prend cette longueur pour pouvoir obtenir une pression plus considérable que la pression normale du sang dans les vaisseaux), à l'autre extrémité duquel est adaptée une canule. Sur le tube est disposée une pince à pression continue qui fait fonction de robinet. On remplit du liquide coloré l'entonnoir et le tube de caoutchouc; les mors de la pince sont écartés un moment pour permettre au liquide d'arriver jusqu'à l'extrémité de la canule, puis on la laisse se refermer. Lorsque la canule a été introduite dans un vaisseau et fixée comme nous l'avons dit plus haut (voy. p. 110), on fait tenir l'entonnoir par un aide à une certaine hauteur, ou bien on le suspend à un objet quelconque, à un clou, à un bec de gaz, à une poulie, et l'on enlève la pince à pression. Le liquide pénètre dans l'artère par son propre poids et sous une pression que l'on peut faire varier suivant la hauteur à laquelle on suspend l'entonnoir.

Un autre appareil, un peu plus compliqué, mais d'un emploi plus commode, est le suivant : un flacon à deux tubulures dont une est à la partie inférieure est suspendu par une corde à une poulie qui permet de le hisser à des hauteurs variées. De la tubulure qui est au bas du flacon part un tube de caoutchouc très long, sur lequel est placée une pince à pression et qui communique avec une des tubulures d'un second flacon par le moyen d'un tube de verre qui y plonge jusqu'au fond. De la partie supérieure de ce second flacon part un nouveau tube qui va se rendre à un troisième flacon où se trouve la matière à injection. Le premier flacon est rempli d'eau. Quand tout est disposé pour l'injection, les mors de la pince qui ferme le grand tube de caoutchouc sont écartés; l'eau descend du premier flacon dans le second et en déplace l'air, qui vient exercer sa pression à la surface de la masse dans le troisième flacon, et la force à passer dans l'objet à injecter.

Il est possible de faire de très bonnes injections avec n'importe lequel de ces appareils, ou même avec d'autres analogues qu'il serait facile d'imaginer. La question importante, en effet, est moins le choix de l'appareil que la préparation de la masse et la disposition de la pièce au moment où cette masse pénètre dans le système vasculaire. Il faut que la canule soit parfaitement fixée dans le vaisseau, et que tous les autres vaisseaux ouverts, s'il y en a, sauf la veine qui accompagne l'artère et sur laquelle on a placé une ligature d'attente, soient exactement ligaturés ou fermés avec des pinces à pression continue. Ces précautions ne sont pas nécessaires si l'on injecte un animal tout entier.

Pour les injections des vaisseaux sanguins et lymphatiques, nous préférons la seringue à tout autre instrument. Elle est d'un emploi très commode, et, entre les mains d'un opérateur exercé, elle fournit d'excellents résultats. Pour les injections des conduits glandulaires et, en particulier des conduits biliaires, il est nécessaire de se servir des appareils à pression continue, parce qu'il ne

faut pas dépasser une basse pression (2 centimètres de mercure, par exemple), et cependant faire pénétrer la masse.

Procédé physiologique de Chrzonczczewski[1]. — Ce physiologiste a eu l'idée d'employer le cœur comme moteur, et de placer la masse à injection dans le sang de l'animal vivant.

Deux points surtout sont importants : c'est d'abord d'avoir des matières à injection convenables, et ensuite de savoir le temps qui est nécessaire pour la réplétion des vaisseaux ou des conduits glandulaires.

Pour les vaisseaux sanguins, l'auteur emploie un liquide dont voici la formule :

Carmin	5
Ammoniaque	1,50
Eau distillée	50

Ce procédé ne s'emploie jamais que pour des injections partielles; les quantités de masse qu'il faut prendre varient suivant les animaux.

Pour le rein d'un petit lapin, il faut	5 centim. cubes.
Pour celui d'un lapin de moyenne taille	10 —
Pour celui d'un grand lapin	15 —
Pour celui d'un chien	25 —

La masse étant préparée et filtrée, la veine jugulaire de l'animal est découverte, et une ligature y est placée; on ouvre le bout périphérique de la veine et l'on en laisse couler une quantité de sang équivalente à la quantité de liquide que l'on se propose d'injecter. Cela fait, le sang est arrêté par une nouvelle ligature, et la masse carminée est injectée lentement par le bout central de la veine. D'après l'auteur, la quantité d'ammoniaque ainsi introduite dans l'économie ne produit pas d'accidents graves; les animaux ont même, dans certains cas, survécu à ces injections. Dès que l'injection est terminée, l'abdomen est largement ouvert, et on lie d'abord la veine de l'organe que l'on veut injecter, par exemple, pour le rein, la veine rénale; l'organe alors se remplit de sang et se gonfle; on lie l'artère, puis le tout est enlevé et transporté dans de l'alcool absolu auquel on a ajouté une petite quantité d'acide acétique. L'alcool durcit l'organe, et, avec l'acide acétique, il fixe le carmin et l'empêche de diffuser.

Pour injecter les conduits glandulaires, Chrzonczczewski a cherché des substances qui s'éliminent par les glandes. Comme le carmin s'élimine par les reins, il emploie, pour en injecter les conduits, la solution carminée qui convient pour injecter les vaisseaux et le même procédé opératoire; seulement au lieu de pratiquer de suite les ligatures comme s'il s'agissait des vaisseaux, il attend une heure. Au bout de ce temps, le carmin, d'après son estimation, doit avoir pénétré dans les cellules et dans le calibre des conduits glandulaires; alors il lie l'uretère, ouvre l'artère et la veine rénales, et pousse par l'artère une injection de chlorure de sodium à 1 pour 200. Cette injection balaye le sang et fixe le carmin dans les conduits glandulaires. L'organe est mis ensuite dans l'alcool absolu.

1. *Chrzonczczewski*, Archives de Virchow, vol. XXXI, 1864, p. 187, et vol. XXXV, 1866, p. 155.

Pour injecter le foie, c'est le carmin d'indigo qu'il faut employer. On fait dissoudre cette substance dans l'eau jusqu'à saturation, et l'on filtre; il faut prendre environ 20 centimètres cubes de cette solution pour un lapin, 50 centimètres cubes pour un chien. L'injection doit être répétée trois fois en une heure et demie, chaque fois à une demi-heure d'intervalle; puis le canal hépatique est lié, et l'on fait passer par la veine porte une injection de chlorure de potassium. Cela fait, la pièce est enlevée et portée dans l'alcool absolu.

Quand les conduits glandulaires ont été ainsi injectés, on peut injecter les vaisseaux par la méthode ordinaire, à la gélatine, en se servant d'une masse bleue pour le rein et d'une masse carminée pour le foie. Dans ces cas, il est inutile de faire passer d'abord le courant de chlorure de sodium ou de potassium.

CHAPITRE X

MÉTHODES POUR LA CONSERVATION DES PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES

Nous venons de passer en revue les différents procédés au moyen desquels on modifie les tissus, de façon à en permettre l'observation microscopique; il nous reste, pour être complet, à dire quelques mots des méthodes à l'aide desquelles on conserve les préparations une fois faites, soit pour les étudier à nouveau, soit pour les montrer à d'autres observateurs.

Il n'y a que fort peu de préparations que l'on conserve à sec, c'est-à-dire dans l'air. L'objet déposé sur la lame est simplement recouvert de la lamelle, celle-ci est fixée au moyen d'une bande de papier gommé dans laquelle on a découpé un trou au niveau de la préparation. Le plus souvent on conserve les préparations dans des liquides qui varient suivant les tissus et suivant le traitement qu'on leur a fait subir.

Des éléments ou des portions de tissus frais ne peuvent être longtemps conservés en préparations dans l'eau, dans du sérum du sang ou dans l'humeur aqueuse, sans subir des modifications telles qu'au bout de quelques jours tout est altéré. On a proposé depuis longtemps des liquides qui auraient la propriété de conserver indéfiniment les tissus qu'on y a mis à l'état frais[1];

1. Nous citerons parmi ces liquides les mélanges indiqués par Pacini et le liquide de Goadby.

Pacini a recommandé un mélange de :

Sublimé	1
Chlorure de sodium	2
Glycérine à 25° Baumé	13
Eau distillée	113

Ce mélange doit être abandonné à lui-même pendant deux mois, puis mélangé avec

mais en réalité aucun de ces liquides ne possède ces avantages. Il n'est pas à dire pour cela que l'on ne puisse avoir des préparations persistantes des éléments de l'organisme même les plus délicats. Pour atteindre ce but, il convient, non pas d'employer un seul liquide conservateur, mais une série de réactifs dont les uns servent à fixer les éléments dans leur forme et à les rendre plus ou moins inaltérables, d'autres à les colorer, d'autres enfin à les mettre à l'abri de modifications ultérieures. La méthode à suivre dans la conservation des éléments anatomiques séparés n'est pas la même pour tous. A propos de chaque espèce, nous décrirons les procédés à suivre; nous nous contenterons maintenant d'indiquer ce qu'il y a de plus général dans ces procédés.

Réactifs fixateurs. — Les réactifs destinés à fixer les éléments dans leur forme sont l'alcool au tiers, l'acide chromique faible, le bichromate faible, l'acide osmique, l'acide picrique, le sublimé, le sérum iodé. L'alcool au tiers, par exemple, fixe les cellules épithéliales les plus délicates, même les cellules à cils vibratiles, tandis qu'il dissout l'hémoglobine des globules rouges du sang. Après un séjour de quelques heures dans l'alcool au tiers ou dans le sérum iodé, les cellules d'un revêtement épithélial se séparent facilement les unes des autres par la simple agitation sur une lame de verre. Une goutte de picrocarminate mêlée avec une aiguille à ces cellules les colore presque instantanément; elles sont alors fixées dans leur forme de telle sorte que de la glycérine peut y être ajoutée, graduellement il est vrai (voy. page 99), sans produire le ratatinement que ce réactif détermine sur les mêmes éléments frais. Ce simple exemple suffira pour donner une idée de la préparation des éléments délicats isolés; le lecteur trouvera dans le cours de cet ouvrage de nombreuses applications de ces méthodes complexes.

Glycérine. — La glycérine a souvent l'inconvénient de rendre les parties trop transparentes; la préparation doit être conservée alors dans une solution aqueuse; l'eau phéniquée contenant de 1 à 10 pour 1000 d'acide phénique cristallisé constitue certainement le meilleur des liquides conservateurs. Il faut alors avoir recours à des moyens de fermeture hermétique.

5 parties d'eau distillée, et filtré sur du papier joseph. Nous l'avons essayé, mais sans lui trouver aucun avantage particulier.

Le deuxième liquide indiqué par Pacini est composé de :

Sublimé..	1
Acide acétique..	2
Glycérine.	45
Eau distillée..	215

On le laisse à lui-même pendant deux mois et on le traite ensuite comme le premier.

Le liquide de Goadby se compose de :

Sel de cuisine.	120
Alun..	60
Sublimé.	0,20
Eau.	2 ½ litres.

D'après Frey, ce liquide (*conserving liquor* des Anglais) obscurcit les préparations transparentes, mais il est très bon pour conserver des préparations d'injections opaques.

S'il s'agit de préparations obtenues au moyen de coupes faites après durcissement dans l'alcool fort, l'acide chromique, l'acide osmique, etc., les éléments des tissus sont fixés dans leur forme, et lorsqu'ils ont été colorés au moyen d'une des substances indiquées plus haut, on peut les placer dans la glycérine ou dans de l'eau phéniquée et les y conserver. Soit, par exemple, un parenchyme, le foie, le rein, durci dans l'alcool fort ou bien par une des méthodes où l'on fait intervenir la gomme pour compléter le durcissement. Les coupes, après un séjour plus ou moins long, suivant les cas, dans l'eau distillée, sont placées sur une lame de verre; une goutte de picrocarminate à 1 pour 100 y est ajoutée; on attend une minute à peu près; une lamelle de verre est alors placée avec soin pour éviter les bulles d'air. Sur la lame de verre, au niveau d'un des bords de la lamelle, on laisse tomber une goutte de glycérine; un petit morceau de papier à filtrer est disposé sur le bord opposé pour absorber le picrocarminate; la glycérine le remplace. On obtient le plus souvent, à l'aide de cette méthode, une préparation où les éléments sont bien distincts et qui s'améliore encore dans les jours qui suivent, parce que l'élection du carmin se complète.

Si la préparation est colorée au carmin simple, après qu'elle a été lavée dans l'eau, on peut employer comme liquide conservateur un mélange de glycérine et d'acide acétique ou formique. Le mélange de glycérine 100 et d'acide formique 1, nous a donné de très bons résultats.

Mélanges de glycérine et de gélatine. — Pour éviter tout déplacement dans le liquide de la préparation, quelques histologistes emploient un mélange de glycérine et de gélatine. A une température de 25 à 50 degrés, le mélange est liquide; on le verse sur l'objet et on recouvre d'une lamelle; il se prend par le refroidissement. Pour préparer ce mélange, conseillé par Deane, une lame de gélatine est plongée dans l'eau distillée; lorsqu'elle est ramollie, elle est fondue au bain-marie, et l'on ajoute un volume égal de glycérine.

Rowdanowski a conseillé d'employer la colle de poisson à la place de la gélatine. Le mélange de colle de poisson et de glycérine est transparent, limpide et conserve très bien les éléments fixés par un des réactifs indiqués plus haut. Pour le préparer, on prend une de ces plaques que l'on trouve dans le commerce et qui proviennent de la vessie natatoire de l'esturgeon, du poids de 5 grammes à peu près. On la soumet à l'ébullition prolongée dans 50 grammes d'eau distillée. Une partie de la plaque échappe à la dissolution. On filtre sur de la flanelle; on ajoute 25 grammes de glycérine et l'on évapore jusqu'à ce que la masse se prenne par le refroidissement en une gelée bien ferme et bien transparente. Cette gelée se conserve indéfiniment, à la condition qu'elle renferme peu d'eau, c'est-à-dire qu'on ait chauffé assez longtemps pour l'évaporer presque entièrement après l'addition de la glycérine.

Baume du Canada. — La conservation dans le baume peut s'employer pour tous les tissus, mais seulement après injection ou coloration, car l'inclusion dans le baume rend les parties tellement transparentes, que si elles

ne se distinguaient pas les uns des autres par leur couleur, on n'y reconnaîtrait presque plus rien. Avant de placer la coupe de tissu dans le baume, il faut qu'elle soit déshydratée par l'alcool et éclaircie avec l'essence de térébenthine ou de girofle. La déshydratation par l'alcool doit être faite avec mesure, c'est-à-dire qu'il faut faire agir de l'alcool étendu d'eau, puis de l'alcool ordinaire, et n'arriver que progressivement à l'alcool absolu. Autrement il se produit un retrait qui change la forme et les rapports des parties.

Soit, par exemple, une coupe faite dans un parenchyme injecté et durci dans l'alcool, déshydratée par l'alcool absolu. Après l'avoir placée sur une lame de verre, on y ajoute une goutte d'essence de térébenthine, ou mieux d'essence de girofle, en ayant soin de ne pas envoyer son haleine sur la préparation, pour ne pas y ajouter d'eau. Lorsque la coupe est devenue transparente dans toutes ses parties, l'excès d'essence est absorbé avec du papier à filtrer; on laisse tomber sur l'objet du baume du Canada dissous dans le chloroforme, puis on recouvre de la lamelle, en ayant soin de retenir avec la pointe d'une aiguille l'un de ses bords, de manière à la faire descendre doucement et à ne pas laisser s'interposer de bulles d'air. Du reste, s'il se trouve dans une préparation quelques petites bulles d'air, il n'y a pas lieu de s'en inquiéter; au bout de quelques jours, elles disparaissent, l'air est dissous par le baume.

On opère de même avec la résine dammare dissoute dans l'essence de térébenthine ou avec tout autre vernis.

Quelle que soit la substance conservatrice qui ait été employée, mais surtout lorsqu'elle diminue de volume par suite de l'évaporation (le baume, la résine dammare, les vernis par exemple), la lamelle à recouvrir est rapprochée de la lame de verre par une force qui est proportionnelle à l'adhésion moléculaire du verre et de la substance employée. Cette force est considérable et suffit souvent pour produire des déplacements et même des déchirures. Nous avons vu des pièces injectées où les vaisseaux étaient rapprochés les uns des autres par tassement et la masse à injection divisée en petits fragments par suite de cette adhésion moléculaire. Pour éviter ces accidents, il faut placer à côté de l'objet et sous la lamelle des bandes de papier dont l'épaisseur doit varier suivant celle de la coupe. Ces bandes de papier peuvent être disposées en fer à cheval, ou bien on peut enlever à l'emporte-pièce un cercle autour duquel doit rester une bordure, et dans lequel est disposée la préparation avec la substance conservatrice.

Du reste, la pression exercée par la lamelle de verre est à éviter pour tous les éléments délicats (cellules épithéliales isolées, cellules nerveuses, coupes de rétine, coupes d'embryon, etc.). Il est nécessaire, pour toutes ces préparations, d'établir des supports entre la lame et la lamelle, ou d'employer des cellules à inclusion qui remplissent le même but (voy. plus loin).

Fermeture des préparations. — Lorsque le tissu a été imbibé de glycérine, il importe de fixer la préparation de façon que ce liquide ne puisse pas s'écouler, et que l'air ne puisse pas y pénétrer.

Dans ce but, on fixe la lamelle sur la lame au moyen de différents mastics

que l'on dépose sur les bords de la lamelle et, qui, adhérant d'une part à la lame, de l'autre à la lamelle, la préservent des déplacements et empêchent la fuite du liquide. Parmi les substances que l'on emploie pour faire ainsi des bordures, la plus commode est la paraffine.

Bordure à la paraffine. — La paraffine, dont on se sert pour border les préparations, fond à environ 50°; pour en faire usage, on se sert d'une petite baguette de fer que l'on chauffe soit à la flamme du gaz, soit à celle d'une lampe à alcool, et qu'on applique sur le morceau de paraffine. Celle-ci fond dans le voisinage de la baguette de fer, et il adhère à cette dernière quelques gouttes de paraffine liquide que l'on dispose, en inclinant la baguette de manière qu'elles coulent vers son extrémité, d'abord aux quatre coins de la lamelle pour la fixer provisoirement, ensuite sur toute l'étendue de ses bords. Une fois la lamelle suffisamment garnie de paraffine, la baguette de fer est chauffée à nouveau, et en l'appliquant à plat et parallèlement à l'un des bords de la lamelle, on fait fondre la paraffine déposée d'abord, et on l'étale sur une certaine étendue des bords de la lamelle et de ceux de la lame. Il importe, pendant ce temps de l'opération, de tenir, la lame bien horizontale, autrement la paraffine s'accumulerait vers un des coins de la bordure, et il n'en resterait pas assez à l'autre angle pour produire l'occlusion. On opère de la même façon sur les trois autres côtés, de manière à encadrer la lamelle d'une bordure de paraffine.

Pour produire l'occlusion, il est nécessaire que le liquide qui imbibe la préparation ne dépasse en aucun point la lamelle; autrement il empêcherait l'adhérence de la paraffine au verre; il s'échapperait ensuite en suivant cette voie capillaire pour se répandre sur une portion plus ou moins étendue de la lame de verre. Sous la lamelle, il serait alors partiellement remplacé par de l'air.

La bordure à la paraffine a l'avantage d'être facile à faire et de pouvoir s'enlever aisément. Il est en effet nécessaire quelquefois de l'enlever, soit lorsque, le liquide s'étant évaporé, on veut en ajouter de nouveau, soit lorsqu'une coloration étant imparfaite, il devient nécessaire d'introduire une nouvelle quantité de matière colorante, soit enfin lorsqu'on veut remplacer par un autre le liquide dont elle imbibée. Le procédé à suivre est facile. Sur deux côtés opposés de la lamelle, on gratte avec la pointe d'une aiguille ou d'un scalpel la bordure de paraffine sur une étendue de 3 à 4 millimètres, assez complètement (et en pénétrant sous la lamelle s'il est nécessaire) pour que le liquide de la préparation se montre sur le bord de la lamelle.

Près de l'une des ouvertures ainsi pratiquées est déposée une goutte du liquide à introduire, et avec la pointe de l'aiguille elle est mise en communication avec le liquide inclus. A l'extrémité opposée on met un petit morceau effilé de papier à filtrer, en ayant soin qu'il soit en communication avec le liquide inclus et puisse l'attirer en l'absorbant par capillarité. Il se produit ainsi un déplacement, et le nouveau liquide pénètre peu à peu dans la préparation. Lorsque ce résultat est atteint, on essuie avec du papier joseph les bords de la lamelle au niveau des ouvertures, on dépose en ces points de

nouvelles gouttes de paraffine, et au moyen de la baguette de fer chauffée, on égalise à nouveau la bordure.

Lorsque l'on se sert de ce procédé pour remplacer dans une préparation le liquide évaporé, il faut avoir soin de pratiquer l'une des ouvertures, celle où l'on déposera la goutte du réactif, sur un des points de la bordure où il y a encore du liquide, et l'autre au voisinage d'un point où a pénétré de l'air.

Bordure provisoire. — S'il s'agit simplement de maintenir provisoirement la lamelle en position, il suffit de déposer de la paraffine à ses quatre coins. C'est le procédé dont on se sert quand on a l'intention de faire agir ultérieurement sur le tissu d'autres réactifs. Dans ce cas, lorsque le liquide est volatil (eau), la préparation est placée dans une chambre humide qui lui tient lieu de la bordure de paraffine, en ne permettant qu'une évaporation nulle ou insignifiante.

Cette chambre humide se construit très simplement. Elle consiste en une assiette recouverte d'une cloche de verre et dans le fond de laquelle on verse un peu d'eau. Dans le milieu de l'assiette on met un godet dont les bords dépassent le niveau de l'eau, et sur lesquels on appuie les extrémités de la lame de verre. L'air sous la cloche se trouve saturé de vapeur d'eau, et le liquide de la préparation ne s'évapore pas.

La chambre humide est le complément obligé du traitement des préparations par le picrocarminate. C'est en effet surtout dans ce réactif qu'il est nécessaire de maintenir, sans les inclure, des tissus que l'on veut colorer lentement, et où plus tard on le remplacera par de la glycérine.

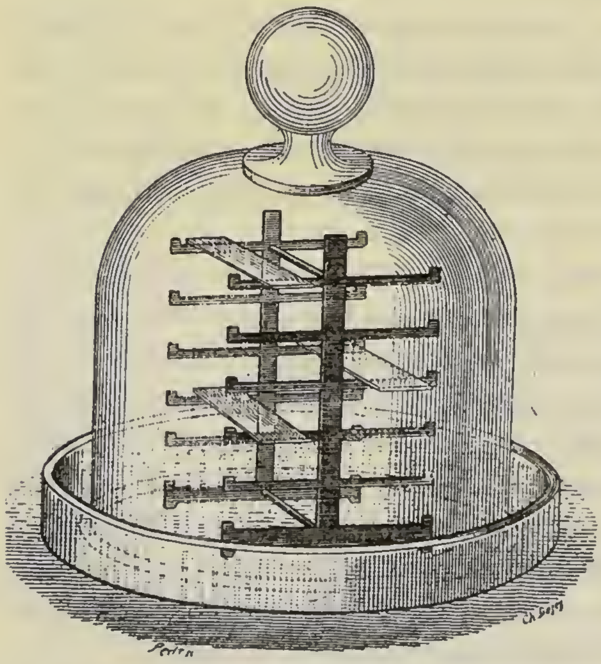


Fig. 47. — Chambre humide à échelle.

Seulement, comme on ne peut mettre, dans la chambre humide que nous venons de décrire, qu'un nombre limité de préparations, deux ou trois au plus, et que si l'on en avait un plus grand nombre à colorer, il faudrait plusieurs chambres humides, il est plus commode d'employer une de celles qui ont été construites par M. Verick, d'après les indications de M. Malassez. Dans cette chambre humide, il y a douze échelons sur chacun desquels on peut placer une préparation (fig. 47).

Cire à cacheter. — Une autre substance très propre à border les préparations est la cire à cacheter. Nous avons dit plus haut qu'il fallait faire usage de cire à cacheter de première qualité. Pour s'en servir, on brise les bâtons en morceaux que l'on met à dissoudre dans de l'alcool ordinaire. Cette dis-

solution exige plusieurs jours; il faut agiter de temps en temps avec une baguette de verre, pour mélanger la masse qui finit par avoir la consistance d'un mastic; on la conserve dans un flacon bouché.

Pour border une préparation, on en prend au bout d'un pinceau ou simplement d'un petit morceau de bois et on l'étend sur les bords de la lamelle, en prenant les précautions indiquées pour la paraffine. L'alcool s'évapore, et au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, la préparation est bien incluse. Lorsque le mastic est devenu trop épais dans le flacon, on lui rend une fluidité convenable en y ajoutant un peu d'alcool. Il ne faut employer directement ni la cire à cacheter ni aucun vernis à l'alcool pour les préparations conservées dans du picrocarminate en excès, parce que l'alcool pénètre dans le liquide conservateur, et détermine une précipitation du carmin.

Pour obvier à cet inconvénient, il faut se servir de l'enduit simple à la paraffine, ou d'enduit à l'essence de térébenthine et au bitume de Judée.

Les préparations bordées à la paraffine ne sont pas transportables; il est bon, pour les rendre solides, d'y ajouter une bordure de cire à cacheter. (Le bitume ne conviendrait pas, parce qu'il se mêle à la paraffine et constitue un mélange qui ne sèche pas.) La bordure de cire à cacheter doit dépasser en dedans et en dehors la bordure de paraffine, car pour déterminer une occlusion absolue il est nécessaire qu'elle adhère directement au verre. Ce vernis, ainsi que ceux dont nous allons parler, s'emploie pour l'inclusion définitive des préparations, tandis que la paraffine sert surtout à leur fermeture provisoire.

Bitume de Judée. — Le bitume de Judée en solution dans l'essence de térébenthine ou dans la benzine constitue aussi un bon mastic. Pour le préparer on fait cuire le bitume et l'essence au bain-marie; il est nécessaire de prolonger cette coction pendant plusieurs jours pour que le vernis ne s'écaille pas.

Le vernis des graveurs, dans la composition duquel il entre du bitume de Judée, et qui se trouve dans le commerce, peut être employé avec avantage pour l'inclusion des préparations.

Vernis divers. — En Allemagne on fait usage de ce qu'on appelle le vernis blanc de Ziegler; la formule est un secret de fabrication. Nous avons essayé d'en faire avec un mélange de sous-nitrate de bismuth, de mastic en larmes et de chloroforme, et nous avons obtenu un enduit qui ne s'écaille pas.

Cellules à inclusion faites d'avance[1] — Pour les préparations conservées soit dans l'eau, soit en général dans les liquides qui s'évaporent facilement, les bordures dont nous venons de parler ne sont pas suffisantes. Pour peu qu'il se produise une fente dans le vernis, le liquide s'évapore insensiblement par cette fente, l'air vient le remplacer dans la préparation, les tissus s'altèrent et la préparation est perdue.

Pour assurer plus efficacement l'occlusion, on se sert de cellules préparées d'avance. On trouve dans le commerce des cellules toutes faites et d'épais-

1. Différents modèles de cellules à préparations, ainsi que la plupart des instruments accessoires se trouvent à Paris, chez M. Cogit.

seurs variées; elles sont construites en verre, en caoutchouc ou en gutta-percha. Il est facile aussi d'en fabriquer soi-même assez avec l'un des vernis dont nous avons parlé plus haut. On commence par appliquer sur la lame de verre une bordure plus ou moins épaisse de l'enduit que l'on a choisi, disposée de telle façon que les bords de la lamelle qui y sera appliquée arrivent environ au milieu de la couche d'enduit. Ensuite, on peut procéder de deux façons. Quand la bordure commence à sécher, ce qui se reconnaît à ce qu'il se forme une pellicule à sa surface, on verse dans l'intérieur de la cellule le liquide conservateur, et on y dépose le fragment ou la coupe de tissu; puis

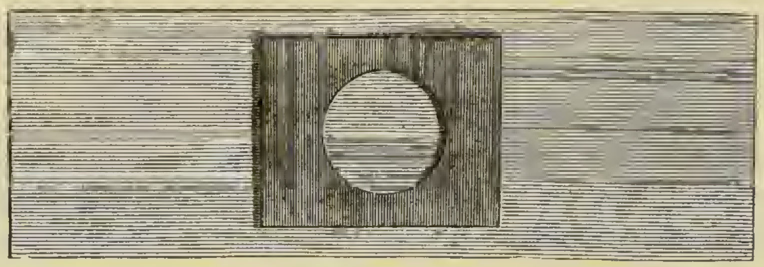


Fig. 48. — Porte-objet à cellule, pour préparations.

on applique la lamelle, sur laquelle on appuie légèrement, de manière à l'enfoncer un peu dans l'enduit et à l'y mouler pour ainsi dire. Le liquide qui a débordé est absorbé avec du papier joseph, et l'on applique une nouvelle couche du même enduit. Il arrive quelquefois qu'au moment où l'on cesse la pression sur la lamelle, celle-ci se relève et qu'il rentre de l'air. Pour éviter cet inconvenient, il faut mettre un excès de liquide conservateur, ou même, lorsque ce liquide n'est pas précieux, en verser dans une soucoupe dans laquelle on plonge la lame tout entière avec sa bordure. On relève la cellule bien remplie de liquide, on l'essuie et on la borde.

L'autre manière de faire consiste, après avoir déposé la bordure de vernis suffisamment épaisse, à attendre qu'elle soit complètement sèche. Elle est alors usée sur une pierre ponce de manière à obtenir une surface parfaitement plane. Le tissu est mis dans la cellule avec le liquide qui l'imbibe, la lamelle appliquée exactement sur la bordure, et le tout fixé avec une nouvelle couche de vernis.

Tournette. — Nous avons supposé, dans ce que nous venons de dire, qu'on se sert de lamelles carrées. Pour faire des cellules rondes, qui peuvent paraître plus élégantes, on se sert de la tournette. Ce petit instrument se compose d'un disque horizontal tournant autour de son axe et sur lequel la lame de verre est assujettie au moyen de deux valets. Au-dessus de ce disque et passant suivant son diamètre, est disposée une tige de laiton horizontale sur laquelle se meut un pinceau dirigé verticalement et arrivant à toucher le disque. Ce pinceau peut être fixé à n'importe quel point de la tige de laiton, et lorsqu'on fait tourner le disque, il trace sur la lame de verre des cercles d'un diamètre varié, suivant qu'on l'a placé plus ou moins loin du centre du disque. On plonge le pinceau dans le vernis, puis on en appuie la pointe sur la lame de verre, que l'on fait tourner. On trace ainsi sur

cette lame une bordure circulaire de vernis qui enferme une cellule plus ou moins considérable. Il faut que les bords de la lamelle qui y sera appliquée arrivent au milieu de la bordure tracée par l'enduit. Quand cette bordure a atteint la hauteur voulue, le pinceau est relevé, la pièce et le liquide conservateur sont introduits dans la cellule, on applique la lamelle et, avec une pointe de bois mise à la place du pinceau, on l'enfonce légèrement dans la bordure en faisant tourner le disque. On essuie l'excès du liquide, et l'on complète l'occlusion en faisant de nouveau agir le pinceau.

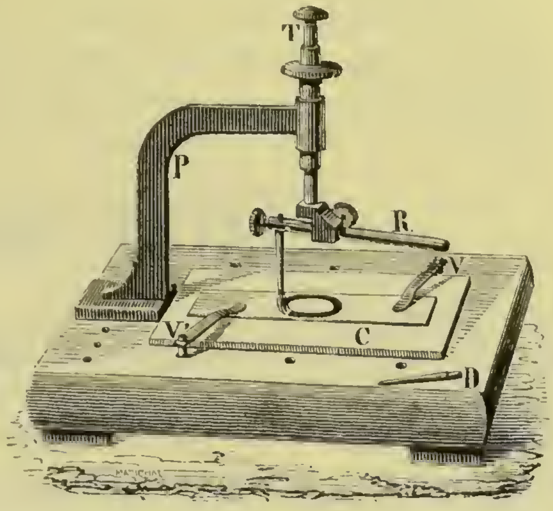


Fig. 49. — Tournette de M. Cornu.

Les lamelles rondes se trouvent dans le commerce; il est facile d'en faire avec la tournette, en remplaçant le pinceau par une pointe de diamant.

Pour éviter de faire tourner le disque chargé de sa lame de verre, M. Maxime Cornu a imaginé une autre espèce de tournette dans laquelle la lame reste immobile; c'est le pinceau que l'on fait tourner autour d'un axe.

Nous sommes arrivé ainsi à la fin des méthodes générales employées pour examiner les tissus et pour conserver les préparations. Nous allons indiquer maintenant, en passant en revue les différents tissus, les méthodes qui conviennent à la préparation de chacun d'eux en particulier.

LIVRE DEUXIÈME

TISSUS

Nous avons étudié dans le livre premier les instruments dont se sert l'histologiste et les principaux réactifs qu'il peut avoir à employer; nous avons indiqué de plus, dans la partie consacrée aux méthodes générales, les procédés à suivre pour permettre d'examiner au microscope les différents tissus. Nous passons maintenant à une seconde partie de la technique histologique, c'est-à-dire à l'application de ces réactifs et de ces procédés à chaque tissu en particulier. Il ne suffit pas en effet, pour guider l'observateur dans l'étude de l'histologie, de lui indiquer les instruments dont il aura à faire usage et de lui en enseigner le maniement; il ne suffit même pas de lui donner des renseignements généraux sur les procédés à suivre; il est indispensable en outre de montrer comment l'emploi de ces réactifs doit varier suivant les tissus qu'il s'agit d'examiner, et quelles sont les méthodes qu'il est préférable d'employer dans tel cas ou dans tel autre, suivant l'objet spécial qu'il s'agit d'observer plus particulièrement.

Nous allons donc, dans cette seconde partie, passer en revue successivement tous les tissus, et indiquer à propos de chacun d'eux quels sont les animaux sur lesquels il est le plus aisé à étudier et où il se présente avec ses caractères les plus nettement tranchés; quelles sont les régions du corps où il convient de le recueillir, et de quelle façon il faut s'y prendre pour ne pas l'altérer avant l'examen. Puis, nous montrerons, par de nombreux exemples, quels sont les procédés que l'on doit mettre en usage pour en faire des préparations, c'est-à-dire pour le conserver, pour le rendre susceptible de l'observation microscopique, ou pour rendre l'un ou l'autre de ses éléments nettement visible avec tous ses caractères. Nous verrons ainsi, à propos de chaque tissu, ce que nous apprennent les différentes méthodes de traitement qu'on lui fait subir, et nous résumerons, pour chacun d'eux, les connaissances positives que l'ensemble de nos études nous aura fait acquérir.

En suivant ce programme, nous ne comptons pas donner un exposé complet de l'histologie; nous ne pourrions, sans étendre trop le volume de cet ouvrage, passer en revue, à propos de chaque tissu, l'action de tous les

réactifs qui lui ont été appliqués; mais nous enseignerons ceux qui, d'après notre expérience personnelle, fournissent les meilleurs résultats, et chaque observateur, en suivant exactement les procédés que nous avons employés et que nous décrirons, pourra retrouver les faits que nous indiquons et partir de ces notions pour éclaircir par des recherches personnelles les points obscurs ou combler les lacunes qui existent encore dans presque toutes les parties de l'histologie.

CHAPITRE PREMIER

LYMPHE

Il peut paraître singulier de voir ranger la lymphe parmi les tissus, attendu que c'est un liquide. Mais dans la définition des tissus telle que nous l'entendons, nous ne faisons pas entrer le degré plus ou moins grand de consistance; il suffit que la lymphe contienne des éléments figurés, disposés d'une certaine façon, pour qu'elle constitue un tissu aussi bien qu'un muscle ou un nerf.

Endroits où l'on trouve la lymphe. — La lymphe se rencontre, chez les animaux supérieurs, dans les vaisseaux lymphatiques et chylifères, dans les grandes cavités séreuses (péritoine, plèvre, péricarde), dans les ganglions lymphatiques et dans les interstices du tissu conjonctif. Chez la grenouille, elle se trouve dans un système de cavités lacunaires communiquant entre elles. De ce système de cavités, fait partie un grand sac situé à la partie inférieure du dos, et que l'on nomme *sac lymphatique dorsal*. C'est là que la lymphe peut être recueillie le plus facilement.

La quantité que ce sac en contient est très variable suivant les circonstances : ainsi elle est en général presque nulle si la grenouille a séjourné longtemps dans un endroit sec. Le moyen le plus simple pour reconnaître si le sac dorsal contient une quantité appréciable de lymphe consiste à mettre la grenouille à plat et à essayer si, dans la région de ce sac, il y a de la fluctuation, comme le font les chirurgiens.

Manière de recueillir la lymphe chez la grenouille. — Pour recueillir cette lymphe, on fabrique, en étirant un tube de verre à la lampe, une pipette effilée dont la pointe est cassée, de manière à la rendre tranchante. Les pattes postérieures de la grenouille sont enveloppées d'un linge, aussi bien pour la maintenir que pour refouler la lymphe vers le sac lymphatique; puis, en comprimant avec les doigts les côtés du dos, pour ramasser la lymphe vers le milieu, on fait au point saillant une ponction à la peau avec la pipette tenue obliquement de haut en bas, et on l'introduit ainsi dans le sac dorsal. La pipette se remplit généralement de suite par capillarité.

La quantité de lymphe recueillie ainsi n'est jamais considérable; on en a

tout au plus une ou deux gouttes; mais cette quantité (qui serait insignifiante pour une analyse chimique) est parfaitement suffisante pour un examen histologique.

Dans l'espoir de faire augmenter la quantité de lymphe dans le sac dorsal de la grenouille, nous avons essayé divers procédés. Ainsi, partant du fait d'observation que la circulation capillaire est plus active chez une grenouille soumise à l'action du curare, nous avons tenté ce moyen, pensant qu'à une circulation capillaire aussi complète que celle qui se manifeste alors devait correspondre une transsudation exagérée du sérum hors des vaisseaux sanguins et un accroissement de la quantité totale de la lymphe. Dans cette expérience, nous n'avons constaté aucune augmentation de ce liquide dans le sac dorsal[1]. Nous avons aussi essayé de mettre une grenouille dans le vide; mais la quantité de la lymphe a été diminuée au lieu d'être augmentée. Le seul moyen expérimental qui nous ait réussi pour faire augmenter la quantité de la lymphe chez la grenouille a été de la mettre dans l'eau; l'augmentation est proportionnelle, jusqu'à une certaine limite, à la durée du séjour qu'elle y fait.

Lorsque l'on a fait une première piqûre à la peau de la grenouille dans le but d'y prendre de la lymphe, on en trouve le lendemain une quantité beaucoup plus considérable; mais cette nouvelle lymphe ne peut plus être considérée comme normale, à cause des altérations qu'a dû y amener l'inflammation produite autour de la plaie.

Manière de recueillir la lymphe chez les grands mammifères. — Chez les grands mammifères, on prend la lymphe dans le canal thoracique, à la partie inférieure du cou, au point où ce canal va se jeter dans le système veineux. C'est au moyen de fistules pratiquées au canal thoracique que Colin[2] est arrivé aux résultats qu'il a indiqués sur la quantité relative et la composition chimique de la lymphe.

Ce même procédé peut être appliqué chez les chiens. L'animal est curarisé et soumis à la respiration artificielle; son canal thoracique étant mis à nu à la partie inférieure du cou, on y introduit une canule de verre à laquelle est adapté un tube de caoutchouc, et le liquide coule dans une éprouvette placée au-dessous. C'est ainsi que Lesser[3] a obtenu 300 centimètres cubes de lymphe en quatre heures.

1. Plus récemment, M. Tarchanof a fait dans notre laboratoire de nouvelles expériences, et il a constaté que chez les grenouilles soumises à l'influence du curare, le sac lymphatique rétrolingual et les différentes cavités viscérales contiennent de grandes quantités de lymphe. Cette lymphe est reprise en partie pour rentrer dans le système vasculaire au moment où l'animal se réveille.

2. *Colin*, Physiologie comparée des animaux domestiques, t. II, p. 101.

3. *K. A. Lesser*, Eine Methode um grosse Lymphmengen vom lebenden Hunde zu bekommen. *Arbeiten aus der physiol. Anstalt zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig*, 1872, p. 94.

En 1870, Genersich, dans le laboratoire de Ludwig, a remarqué que le liquide sort en plus grande abondance du canal thoracique quand on imprime des mouvements aux membres inférieurs. Comme les mouvements passifs produisent un écoulement de lymphe plus abondant que les mouvements actifs, il en conclut que ce n'est pas la contraction musculaire, mais le mouvement imprimé aux aponévroses et aux tendons, qui active l'écoulement de ce

Manière de recueillir la lymphe pour l'analyse histologique. — Comme pour l'analyse histologique il suffit d'une goutte de liquide, le procédé peut être simplifié. Le thorax de l'animal étant largement ouvert, le canal thoracique est assez facile à découvrir à côté de l'aorte; on l'étreint au moyen d'une ligature au-dessous de laquelle il se gonfle et se remplit de lymphe; une seconde ligature est alors placée un peu plus bas; le segment de canal ainsi isolé est enlevé avec les deux ligatures, et avec une pipette effilée on perce la paroi du vaisseau et on aspire une certaine quantité du liquide qui s'y trouve.

Chez le lapin, la lymphe peut être obtenue de la même façon dans le canal thoracique, mais l'opération est un peu plus délicate, parce que ce canal est plus petit. On peut aussi prendre de la lymphe dans une des cavités séreuses. Le lapin est tué par la section du bulbe; la cavité thoracique étant ouverte avec précaution, on arrive sur le péricarde qui est incisé de façon à éviter que le sang ne pénètre dans son intérieur. Puis, avec une pipette plongée au fond de la cavité du péricarde, on aspire le liquide qui s'y trouve, et dont la quantité varie entre 1 et 5 centimètres cubes.

La lymphe, de quelque source qu'elle provienne, est liquide au moment où elle sort de ses cavités naturelles; mais si on la laisse reposer quelques moments après l'avoir extraite, elle se prend en gelée, et ultérieurement se divise, comme le sang, en un caillot fibrineux et en sérum. Battue immédiatement au sortir des vaisseaux, elle donne une fibrine filamenteuse.

L'aspect opalin de la lymphe peut présenter tous les degrés, depuis la blancheur du lait jusqu'à un état trouble qui diffère peu de la transparence parfaite, suivant les espèces d'animaux chez lesquels on l'examine, suivant leur état de jeûne ou de digestion, enfin suivant la région où elle est recueillie. Elle présente aussi une teinte rosée d'intensité variable, suivant la quantité plus ou moins grande de globules rouges du sang qu'elle contient.

Dans le canal thoracique d'un animal en digestion, la lymphe est devenue du chyle, c'est-à-dire qu'elle contient un grand nombre de granulations; chez un animal à jeun, la lymphe du canal thoracique est transparente.

La quantité de la lymphe est plus considérable qu'on ne serait tenté de le croire. Ainsi Colin[1] a recueilli en vingt-quatre heures, par une fistule faite au canal thoracique d'une vache, 95^{kil}.286 de ce liquide, et, comme nous l'avons dit plus haut, Lesser en a recueilli en quatre heures, chez un chien, 300 centimètres cubes. Partant de ces données et d'autres analogues, Krause[2] estime la quantité de la lymphe à un tiers du poids du corps; Ludwig, à un quart environ[3].

liquide. Les aponévroses et les tendons contiennent en effet une grande quantité de lymphe. La lymphe change peu à peu de caractère à mesure qu'elle s'écoule. Au début, elle est opalescente; elle devient ensuite de plus en plus limpide.

1. *Colin*, Physiologie comparée des animaux domestiques. t. II, p. 101.

2. *Krause*, Zur Physiologie der Lymphe (*Zeitschrift für ration. Med.*, 1855, t. VII, p. 148).

3. Chez l'écrevisse et le homard, on peut aisément, au moment de la mue, recueillir la lymphe et en apprécier la quantité. Sur leur carapace, molle et flexible à ce moment, on

La lymphe est donc le liquide le plus abondant de l'organisme. Chez les animaux supérieurs, outre qu'elle remplit le système de canaux spéciaux destiné à la ramener dans le sang, elle se trouve dans les cavités séreuses, dans l'épaisseur même des tuniques fibreuses et des tendons, dans les interstices du tissu conjonctif. En un mot, elle est tellement répandue dans notre organisme, que non seulement nos organes y sont plongés, mais que leurs éléments mêmes en sont entourés. Entre ce liquide et les éléments de notre corps, il se produit des échanges constants, d'où résultent des variations incessantes de la composition chimique de la lymphe.

C'est pour cela que, parmi les nombreuses analyses chimiques de la lymphe, il n'y en a pas deux semblables; sa composition varie constamment, suivant l'endroit où elle est recueillie et suivant les conditions dans lesquelles se trouve placé l'animal. Colin a démontré qu'elle contenait toujours du sucre, environ 15 à 20 centigrammes pour 100 grammes de lymphe; nous verrons ce fait confirmé et expliqué par nos recherches histologiques[1]. On y a trouvé aussi des gaz, et notamment de l'acide carbonique[2]; par contre, l'oxygène y fait presque complètement défaut.

ÉTUDE HISTOLOGIQUE EXPÉRIMENTALE DE LA LYMPHE

Après cet exposé rapide des qualités physiques et chimiques de la lymphe, nous allons étudier ses éléments morphologiques à l'aide du microscope.

Dans cette étude, nous considérerons à part la lymphe des animaux à sang froid et celle des animaux à sang chaud, parce que certains phénomènes que présentent les cellules lymphatiques s'observent dans de tout autres conditions, chez les uns ou chez les autres. Chez la grenouille et chez les animaux

perce un trou et, pressant l'animal entier, on en fait jaillir un jet de lymphe, comme d'une poire de caoutchouc munie d'une canule. Je n'en ai pas mesuré la quantité, mais je ne crois pas me tromper en l'évaluant à la moitié à peu près du poids du corps.

1. Voici, à titre d'exemples, deux analyses de la lymphe, faites la première par Chevreul sur un chien à jeun, l'autre par Gmelin sur un cheval à jeun :

	CHEVREUL (chien)	GMELIN (cheval)
Eau	926,4	961
Albumine	61	27,5
Fibrine	4,2	2,5
Sels	8,4	9

2. *Hammarsten*. Ueber die Gase der Hundelymphe (*Arbeiten aus der physiol. Anstalt zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig*, 1872, p. 121), a fait, dans le laboratoire de Ludwig, une série d'expériences sur les gaz de la lymphe, et il a trouvé que, sur 100 grammes de lymphe, il y avait 42,28 centimètres cubes de gaz qui se décomposaient ainsi :

Azote	1,65
Oxygène	0,45
Acide carbonique	40,52

La proportion d'oxygène a varié, suivant les cas, de 0 à 0,45; celle de l'acide carbonique, de 28 à 40.

à sang froid en général, les mouvements de ces cellules se manifestent à la température ordinaire, et peuvent être étudiés, par conséquent, sans aucun appareil spécial; chez les animaux à sang chaud au contraire, il faut, pour les voir apparaître, élever la lymphe à une température supérieure à 20 degrés, ce qui ne peut se faire que par des moyens artificiels, excepté dans les plus fortes chaleurs de l'été.

Nous commencerons par la lymphe des animaux à sang froid, celle de la grenouille, par exemple.

Lymphe des animaux à sang froid. — Nous avons indiqué plus haut comment, à l'aide d'une pipette effilée, une goutte de lymphe peut être extraite du sac dorsal d'une grenouille. On souffle dans la pipette et on reçoit la lymphe qui s'en écoule sur une lame de verre où elle est immédiatement recouverte d'une lamelle préparée d'avance et bien propre. La préparation est bordée à la paraffine (voy. p. 125) et portée sous le microscope.

Examinée à un grossissement fort, la lymphe ainsi préparée montre des globules rouges du sang, en plus ou moins grand nombre, suivant les conditions dans lesquelles elle a été recueillie; ces globules, ovoïdes et d'une teinte jaunâtre, se distinguent des cellules incolores, arrondies, qui sont les cellules lymphatiques, et dont nous allons nous occuper de suite.

Cellules lymphatiques. — Dans la préparation examinée au moment où l'on vient de la faire, les cellules lymphatiques visibles dans le champ du microscope sont à peu près toutes rondes; mais quelques minutes après, la plupart ne sont plus sphériques. Un certain nombre d'entre elles ont changé de forme, et ont pris les aspects les plus variés. Les unes ont encore leur corps ou ce qu'on pourrait appeler leur milieu sphérique, mais celui-ci émet des prolongements plus ou moins longs, généralement effilés; d'autres sont aplaties, étalées en surface, et occupent une étendue deux à trois fois plus considérable que la cellule.

Mouvements des cellules lymphatiques. — Ces changements de forme continuent à se produire pendant qu'on examine; comme ils sont généralement lents, le meilleur moyen pour bien s'en rendre compte, c'est de choisir dans le champ une cellule bien déterminée que l'on dessine soit directement, soit à la chambre claire; puis de revoir de minute en minute la préparation, pour constater les différences qui se sont produites et que l'on reproduit par des dessins successifs. La cellule lymphatique, ronde au début de l'observation, pousse tantôt un, tantôt plusieurs prolongements effilés, tantôt des sortes d'éminences coniques; ces prolongements grandissent, s'élargissent peu à peu jusqu'à avoir le diamètre de la masse principale. Celle-ci se rétrécit, et finalement la masse entière de la cellule est portée dans ce qui n'était que le prolongement; la cellule se trouve par le fait avoir cheminé, s'être déplacée; et il arrive quelquefois qu'après avoir dessiné une cellule sur le bord du champ, si l'on attend trop longtemps pour l'observer de nouveau, elle en a disparu. Les prolongements qu'elles émettent donnent aux cellules lymphatiques les aspects les plus variés et les plus bizarres.

D'autres cellules restent, comme nous l'avons dit, sphériques et immo-

biles; d'autres s'étendent en surface: nous en avons vu même s'étaler de telle façon à la face inférieure de la lamelle, qu'elles disparaissaient presque complètement et qu'elles n'étaient plus reconnaissables que pour nos yeux, qui les avaient suivies dans leurs transformations, et cela grâce à la réfringence spéciale du bord de la lame de protoplasma ainsi formée.

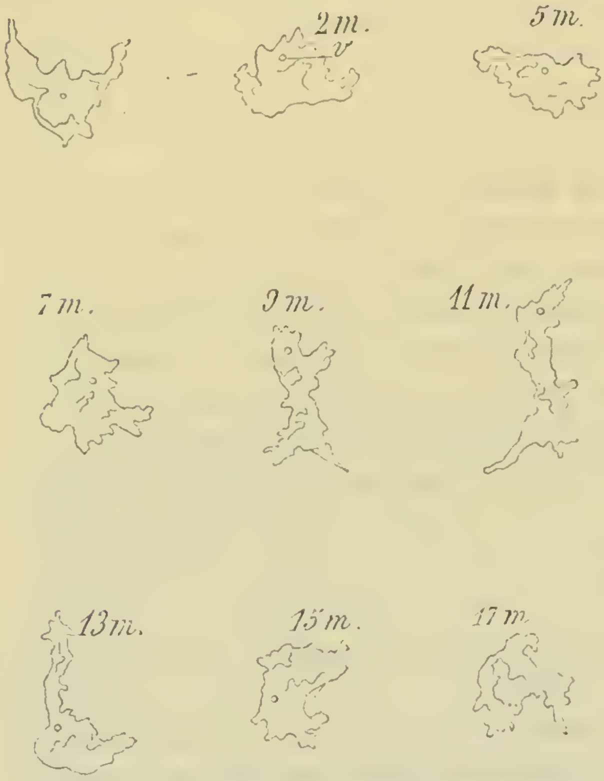


Fig. 50. — La même cellule de la lymphe de la grenouille, observée à la température ambiante et dessinée à la chambre claire, au bout de deux minutes, au bout de cinq minutes, et de deux en deux minutes jusqu'à la dix-septième. Une vacuole *v* change de situation par rapport au centre de figure de l'élément et sert à apprécier les déplacements de sa masse.

Cette première observation suffit à montrer que les cellules lymphatiques ne possèdent pas de membrane, et qu'elles sont constituées par une masse susceptible de changer de forme.

Pour continuer cette étude, laissons cette préparation pendant vingt-quatre à quarante-huit heures, et examinons-la de nouveau. Pour que, dans ces conditions, la lymphe ne soit pas envahie par les bactéries[1] et les micrococcus, il est nécessaire que la lame et la lamelle aient été chauffées d'abord au-dessus de 100 degrés et refroidies immédiatement avant de s'en servir; en second lieu, que la pipette au moyen de laquelle on a pris la lymphe ait été étirée fraîchement. Si ces conditions ont été bien remplies, voici ce que présente la préparation au bout de quarante-huit heures: quelques cellules lymphatiques rondes ont conservé l'aspect qu'elles avaient lors de la première observation; il y en a aussi çà et là quelques-unes dont la forme est irrégulière, trace de leurs mouvements amiboïdes; d'autres, également rondes, sont moins réfringentes et renferment un ou plusieurs noyaux très distincts, entourés de granulations graisseuses. Dans certaines cellules, ces granulations sont grosses, très réfringentes, et forment, au nombre de dix ou douze, comme une couronne autour du noyau; d'autres fois elles sont massées sur une des parties

1. Les bactéries apparaissent d'abord dans les préparations sous la forme d'une masse sphérique granuleuse, dont les granulations sont extrêmement fines et donnent à cette masse une apparence grise. Plus tard, cette boule s'émiette pour ainsi dire sur les bords; il en reste un noyau central où les granulations sont encore denses et serrées, et autour de lui, une sorte d'atmosphère nuageuse qui n'est plus formée par des grains arrondis, mais par des grains allongés, ayant déjà la forme de bâtonnets. Plus tard encore, ce nid de bactéries s'est dispersé, et dans toute la préparation on observe de petits bâtonnets isolés ou articulés. Ces bâtonnets errent parmi les éléments qui sont contenus dans la préparation, et les détruisent.

de la cellule; dans d'autres éléments cellulaires, les granulations sont beaucoup plus fines et disséminées.

Excroissances sarcodiques. — Quelques cellules présentent des excroissances en forme de boules. Ces excroissances sont d'une tout autre nature que les prolongements amiboïdes. Tandis que ces prolongements, une fois produits, changent constamment de forme et peuvent même revenir sur eux-mêmes pour se confondre de nouveau avec la masse de la cellule, les excroissances en question et que j'appellerai *sarcodiques*, d'après Dujardin [1], qui les a décrites le premier, une fois sorties de la cellule, demeurent à l'endroit où elles se sont produites, et jamais ne rentrent dans son intérieur. Elles ont toujours une forme sphérique. Elles sont claires, homogènes et lisses. On peut considérer leur production comme un phénomène de mort (de même que l'apparition nette du noyau et des granulations), tandis que les mouvements et les prolongements amiboïdes sont des phénomènes de vie.

Action de l'eau. — Si, à une préparation de lymphe de grenouille, on ajoute de l'eau, le protoplasma [2] des cellules lymphathiques se gonfle, devient moins réfringent, et leurs noyaux apparaissent nettement; additionnée d'un peu d'acide acétique, l'eau détermine beaucoup plus rapidement ces modifications.

1. C'est généralement à Dujardin qu'est attribuée la découverte des mouvements amiboïdes, par suite de la confusion faite entre ces mouvements et les excroissances sarcodiques décrites par cet auteur. Il n'a vu ni les mouvements des prolongements qu'il décrit, ni la progression des cellules. Le premier qui ait signalé les vrais mouvements des cellules, c'est Wharton Jones (*The blood corpuscle considered in its different phases of development*, Philos. Transact., 1846, p. 64). Depuis lors on a constaté ces mouvements dans des cellules de toute espèce, et aujourd'hui les mouvements amiboïdes sont admis comme une propriété fondamentale de beaucoup de cellules.

2. Le protoplasma est, par excellence, la matière vivante de la cellule. Pour faire comprendre ce que les histologistes modernes désignent sous ce nom, nous sommes obligé de reprendre d'un peu plus haut l'histoire des conceptions diverses qui ont régné sur la cellule.

Les premières notions un peu exactes sur ce sujet remontent à Schwann (*Microscopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Structur und dem Wachsthum der Thiere und Pflanzen*, Berlin, 1839). Pour lui, la cellule était composée d'un nucléole, d'un noyau et d'un corps cellulaire formant trois couches, trois sphères concentriques. Il admettait que le corps cellulaire est limité par une membrane. Cette conception a régné longtemps; elle a duré jusqu'à l'époque où Schultze (*Ueber Muskelkörperchen und das, was man eine Zelle zu nennen habe*, Arch. de Reichert et du Bois-Reymond, 1861, p. 1) et Brücke (*Comptes rendus de l'Académie de Vienne*, t. XLIV, p. 381) ont démontré qu'un grand nombre de cellules ne possèdent pas de membrane. Dès lors la cellule était caractérisée par le noyau et la masse cellulaire qui l'enveloppe. Cette masse cellulaire a été comparée à la substance qui entoure les noyaux des cellules végétales et que les botanistes désignent sous le nom de plasma et de protoplasma. Aussi définit-on aujourd'hui la cellule une masse de protoplasma contenant un ou plusieurs noyaux. Quant à la nature de ce protoplasma, il est difficile d'indiquer exactement ce qu'elle est. Il est formé d'une substance albuminoïde qui contient habituellement des granulations de nature variée. Parmi ses propriétés physiologiques, celle qui la définit le mieux, c'est la faculté qu'elle a de présenter des mouvements amiboïdes; elle est en outre l'organe d'échanges très actifs. Le protoplasma des cellules lymphatiques peut du reste être considéré comme un fort bon type du protoplasma en général, et dans les considérations que l'on va lire sur les cellules lymphatiques, on puisera la notion la plus exacte sur la nature de cette substance, sur sa vitalité très grande, sur ses mouvements et sur les échanges nutritifs variés dont elle est le siège

Action de l'iode. — Les phénomènes de la mort des cellules lymphatiques s'observent plus nettement encore par l'action de l'iode. Le sérum fortement iodé et la solution iodée que nous avons recommandée (voy. p. 94) sont également bons pour cette expérience. Une fois la préparation de lymphe faite, une goutte du liquide iodé est déposée à côté de la lamelle et y pénètre par capillarité. Dès qu'elles sont atteintes par le réactif, les cellules lymphatiques se colorent en jaune verdâtre; le noyau et les granulations apparaissent; il se forme des excroissances sarcodiques incolores ou légèrement teintées en violet. Certaines cellules prennent, ainsi que leurs expansions sarcodiques, une teinte d'un brun acajou.

Matière glycogène. — Cette coloration en brun acajou par l'iode est la réaction caractéristique de la matière glycogène, et comme nous la rencontrons ici pour la première fois, il ne sera pas mauvais que nous nous étendions un peu sur ce sujet, car les caractères généraux de cette substance sont les mêmes dans toutes les cellules, et en général dans tous les éléments qui en contiennent.

Cette matière est homogène; elle est répandue d'une manière diffuse dans la cellule; elle se trouve dans une sorte d'état gommeux qui lui permet de s'étendre. Aussi peut-elle même s'échapper de la cellule pour former des gouttelettes; si l'action du sérum iodé se prolonge, ces gouttelettes se fondent et produisent autour de la cellule une atmosphère brune. La matière glycogène présente les mêmes caractères, quels que soient les éléments anatomiques qui la renferment. La présence de cette matière dans les cellules lymphatiques nous explique pourquoi les analyses chimiques de la lymphe y ont décelé du sucre.

Action des matières colorantes. — L'action des différents réactifs colorants sur les cellules lymphatiques est loin d'être la même. Elle diffère par exemple suivant la rapidité avec laquelle ces substances amènent la mort de ces cellules.

Si l'on mélange sur une lame de verre avec une goutte de lymphe une goutte de picrocarminate d'ammoniaque à 1 pour 100, l'ensemble de la préparation prend une teinte jaune orangé sur laquelle les cellules lymphatiques se détachent en blanc; au bout de quinze à vingt minutes, ces cellules, d'abord homogènes, laissent voir nettement leurs noyaux et leurs granulations, et ensuite prennent la couleur du liquide dans lequel elles flottent. Le pricrocarminate arrête donc les manifestations vitales des cellules lymphatiques, il les tue et ne les colore qu'après.

Le carmin dissous dans l'ammoniaque, mais contenant une très faible quantité de cette substance et en solution étendue, paraît être moins contraire à la vitalité des cellules lymphatiques. En opérant avec du carmin ammoniacal dilué, comme nous avons opéré avec le picrocarminate, on voit les cellules lymphatiques, quoique baignées dans la solution carminée, continuer leurs mouvements amiboïdes et prendre les formes les plus diverses. Les cellules qui ne changent pas de forme demeurent homogènes pendant assez longtemps. Cependant, dès le début, certaines cellules lymphatiques

perdent de leur réfringence et laissent voir des granulations nettes; leurs noyaux se colorent bientôt en rouge. Plus tard seulement les autres cellules deviennent rondes, mais ne se laissent pas encore pénétrer par la matière colorante. La coloration s'y fait ensuite peu à peu, à mesure que l'imbibition se produit. Les noyaux sont alors colorés en rouge et le protoplasma granuleux est à peine rosé. Les autres matières colorantes ont sur les cellules lymphatiques une action analogue; elles déterminent la coloration des noyaux seulement lorsque la cellule est morte.

Noyaux des cellules. — L'étude des noyaux des cellules lymphatiques présente un grand intérêt, parce que c'est sur elle que seront fondées les notions que nous pourrons acquérir sur la multiplication de ces cellules. De toutes les méthodes que nous avons essayées à cet effet, celle qui nous a le mieux réussi est la suivante : à une goutte de lymphe déposée sur la lame de verre on ajoute une goutte d'alcool au tiers (voy. p. 68). Les deux gouttes sont mélangées par agitation avec la pointe d'une aiguille; on recouvre la lamelle et celle-ci est bordée avec de la paraffine. Toutes les cellules lymphatiques sont immédiatement frappées de mort; elles sont revenues à la forme sphérique, présentent souvent sur leurs bords des boules sarcodiques, et leurs noyaux se montrent nettement. Lorsque l'on examine ces noyaux à un fort grossissement avec un bon objectif, on y observe un double contour et des nucléoles. Ces nucléoles sont sphériques ou en forme de virgule, de haricot ou de bissac. Pour bien voir la disposition des noyaux, il vaut mieux les observer sur des préparations colorées avec le rouge d'aniline. Ces préparations se font en mélangeant, comme il a été dit, la lymphe à l'alcool au tiers, et en ajoutant sur la lame de verre une goutte d'une solution de sulfate de rosaniline dans l'alcool dilué. Le tout est mélangé avec l'aiguille et fournit une préparation où les noyaux des cellules lymphatiques se montrent avec toutes les variétés de formes que nous allons décrire.

Dans quelques-unes de ces cellules (elles sont en petit nombre), se montre un noyau sphérique muni ordinairement d'un seul nucléole. Dans d'autres, le noyau est en forme de bissac; mais ce ne sont pas là ses formes les plus communes. Le plus souvent il est cylindrique et replié sur lui-même à la manière des anses de l'intestin. Pour se loger dans l'espace qui lui est réservé, ce noyau qui, s'il était déployé aurait une longueur plus considérable que la cellule, est obligé de se contourner pour s'y loger. Il en résulte que ses différentes parties étant sur des plans différents, la masse nucléaire, bien qu'unique, paraît, lorsque l'objectif est au point pour une certaine région, constituée par deux, trois ou un plus grand nombre de noyaux distincts. Dans une quatrième forme, à côté d'un noyau en boudin, se trouvent un ou deux noyaux sphériques isolés, ou reliés au noyau en boudin par un pédicule. La cinquième et dernière forme dont nous parlerons ici est celle dans laquelle il y a dans l'intérieur de la masse de protoplasma de la cellule lymphatique deux, trois ou quatre noyaux distincts. Cette forme est la plus rare, bien qu'elle ait été considérée avant nous comme la plus fréquente Cela tient à ce qu'on la confondait avec les précédentes.

En étudiant une préparation de lymphe faite comme nous venons de le dire, il semble que l'on observe toutes les phases de la multiplication des noyaux par bourgeonnement : allongement et division des nucléoles, allongement et bourgeonnement des noyaux, chacun des bourgeons prenant un nucléole distinct, et finalement se séparant de la masse nucléaire qui l'a produit. Bien que le phénomène ne se passe pas sous les yeux de l'observa-

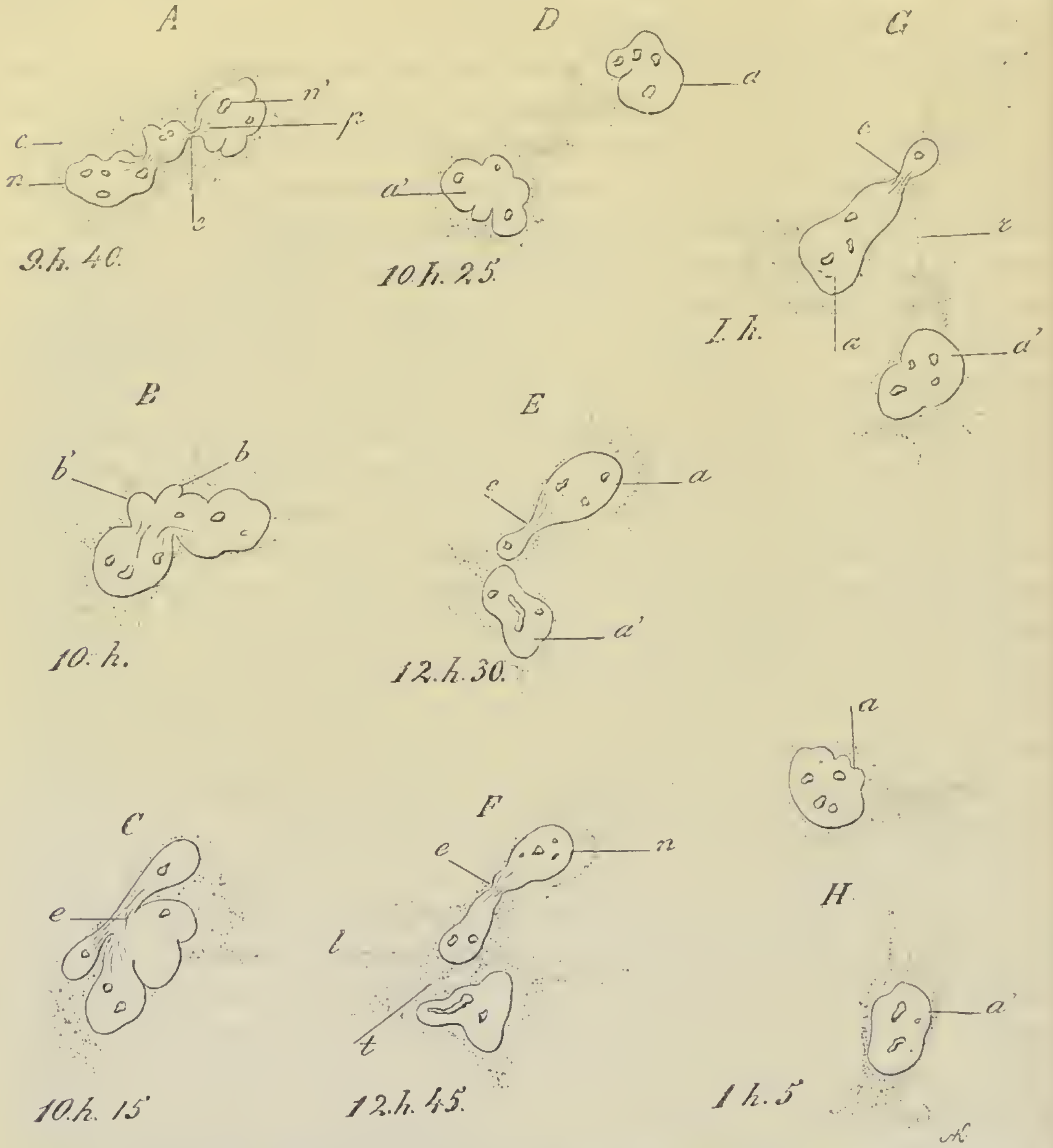


Fig. 51. — Une cellule lymphatique de l'axolotl du Mexique (*Siredon pisciformis*), observée le 12 novembre 1874, pendant trois heures vingt-cinq minutes, à une température qui a varié entre 16° et 18°.

teur, toutes les formes sont réunies les unes aux autres par des intermédiaires si nombreux et si variés, que l'on est conduit à penser que la multiplication des noyaux des cellules lymphatiques est réelle et se fait par bourgeonnement d'une manière très active. Quant à la division de la cellule elle-même, elle est une conséquence si naturelle de la division du noyau, qu'il ne nous paraîtrait pas possible de la mettre en doute, lors même qu'on n'aurait pas fait à ce sujet d'observations directes. Or, nous avons pu obser-

ver le processus dans tous ses détails dans les cellules lymphatiques du sang de l'axolotl.

Division des cellules. — Chez cet animal, la plupart des cellules lymphatiques du sang, étudiées à l'état frais, à une température supérieure à 15 degrés dans le porte-objet chambre humide, possèdent un protoplasma clair, dont la faible réfringence permet l'observation du noyau pendant la vie même de la cellule et tandis qu'elle se traduit par tous les phénomènes amiboïdes. Ces noyaux ont généralement la forme en boudin qui a été décrite plus haut ou présentent des bourgeons en nombre plus ou moins considérable. La formation de ces bourgeons peut se faire sous l'œil de l'observateur et même très rapidement. Il se produit un étranglement du noyau en un point ; cet étranglement se resserre peu à peu et se transforme en un pédicule. Le bourgeon une fois formé, deux phénomènes peuvent se produire : le pédicule, continuant de s'amincir, finit par se rompre, et le bourgeon se détache en emportant avec lui un ou plusieurs nucléoles; ou bien le pédicule, après s'être rétréci, s'élargit de nouveau, et le bourgeon revient se confondre avec le noyau primitif. Dans certaines cellules encore vivantes, on peut voir des noyaux munis de bourgeons nombreux et variés reprendre une forme sphérique par l'effacement de tous ces bourgeons. Plus tard ce noyau sphérique pourra bourgeonner de nouveau.

Revenons maintenant à l'étude d'un noyau qui, en se divisant, a formé deux noyaux distincts, et disons tout de suite qu'au lieu de deux noyaux, il peut s'en former par bourgeonnement trois, quatre et même un nombre plus considérable. Lorsqu'une cellule lymphatique possède deux noyaux et présente sous l'œil de l'observateur les phénomènes amiboïdes, chacun des noyaux semble diriger les mouvements d'une portion distincte de la masse protoplasmique. Cette masse tend à se diviser par une sorte d'étirement en deux parties. La portion étirée intermédiaire s'amincit peu à peu; elle finit par se rompre, et, au lieu d'une cellule lymphatique, il en existe deux. On a assisté ainsi à toutes les phases d'une multiplication cellulaire. J'engage les jeunes histologistes à répéter cette expérience si simple, car elle leur donnera des renseignements très exacts sur la constitution des noyaux et sur leur rôle dans la vie cellulaire. Dans une expérience qui nous a fourni des résultats très démonstratifs, tous les phénomènes de la division d'une cellule lymphatique se sont produits dans l'espace de trois heures, à une température qui a varié de 16 à 18 degrés.

Il y a un détail d'observation à ajouter, c'est que les noyaux qui présentent des étranglements pour former des bourgeons montrent, sur l'étranglement même et dans la région voisine, des plis longitudinaux qui nous prouvent : 1° que les noyaux sont des vésicules; 2° que le protoplasma joue un rôle actif dans le phénomène du bourgeonnement en étranglant par une sorte de contraction des portions de la masse nucléaire, comme le ferait un anneau sur un sac. Si nous sommes entré dans d'aussi grands détails sur ce fait de multiplication cellulaire, c'est qu'il a une très grande importance pour la question tant discutée de la formation des cellules.

Cet exemple frappant se rapporte à ce que l'on appelle aujourd'hui multiplication des cellules par division directe. Ce n'est là qu'un mode de la multiplication cellulaire. Il y en a un autre que l'on n'a pas observé encore dans les cellules lymphatiques comprises dans les vaisseaux et que l'on désigne sous le nom de division cellulaire indirecte. Nous y reviendrons à propos de l'ovule et des épithéliums. La marche suivie dans cet ouvrage, comme le lecteur s'en est déjà aperçu sans doute étant surtout objective, nous ne devons parler d'un phénomène que là où il est question des éléments ou des tissus dans lesquels il se produit.

Action de la chaleur. — Bien que les cellules lymphatiques des animaux à sang froid possèdent des mouvements amiboïdes à la température ambiante, la chaleur n'est pas sans influence sur la forme des prolongements amiboïdes et sur la rapidité des mouvements. Prenons, par exemple, une préparation de lymphe de grenouille, faite comme nous l'avons indiqué, bien scellée, ne contenant pas d'air et abandonnée à elle-même pendant vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, comme il n'y a pas d'air sous la lamelle, les cellules, qui ne peuvent pas respirer, sont atteintes de paralysie, pour ainsi dire. Elles sont pour la plupart rondes et fixes dans cette forme; quelques-unes, en plus ou moins grand nombre, frappées d'asphyxie, sont mortes, ce qui se reconnaît, comme nous l'avons dit, à leur moindre réfringence et à l'apparition nette des noyaux et des granulations. Mettons cette préparation dans la platine chauffante (voy. p. 56), et élevons peu à peu la température. Les cellules à noyau net et évident ne changent point. Mais, parmi les cellules restées homogènes, il en est qui, une fois que la chaleur a dépassé 20 degrés, se réveillent et reprennent des mouvements amiboïdes; ces mouvements, vers 30 à 35 degrés, deviennent très actifs.

La chaleur est donc un excitant pour les cellules lymphatiques, puisqu'elle y fait réapparaître des manifestations de la vie qui sommeillait auparavant.

L'air est aussi un agent excitant des cellules lymphatiques. Pour en observer l'action, prenons un porte-objet chambre humide (voy. p. 58); passons-le à la flamme d'un bec de gaz ou d'une lampe à alcool ainsi que la lamelle destinée à la recouvrir, pour éviter, autant que possible, la présence de germes dans la préparation. Sur le disque médian est déposée la goutte de lymphe; on la recouvre de la lamelle, et celle-ci est bordée avec de la paraffine. De cette façon, la goutte de lymphe, entourée de tous côtés par l'air qui se trouve dans la rigole, est cependant protégée contre l'évaporation.

Immédiatement après avoir été incluses ainsi, les cellules lymphatiques présentent les mêmes phénomènes que dans une préparation ordinaire; mais le lendemain, au lieu que dans cette dernière on observerait un grand nombre de cellules mortes, dans la lymphe entourée d'air, il n'y en a presque pas. Celles qui sont près du centre de la préparation sont en général immobiles, presque rondes ou présentent des mouvements très lents et des prolongements peu accusés; plus, au contraire, elles se trouvent près du bord, et par conséquent près de l'air, plus leurs formes sont irrégulières et leurs prolongements allongés, plus leur aspect varie et leurs mouvements

sont actifs. Cette première observation démontre que l'air est un excitant énergique des cellules lymphatiques. Voici une seconde observation qui l'établit mieux encore :

Le second jour, il se trouve beaucoup plus de cellules lymphatiques sur les bords que le premier jour. Elles ont donc émigré du côté de l'air, à moins qu'elles n'aient été arrêtées sur leur route par quelque obstacle. Comment se fait cette progression? Il est facile de reconnaître d'abord que les prolongements les plus volumineux et les plus nombreux se produisent sur la partie de la cellule tournée du côté de l'air. En suivant pas à pas les transformations des prolongements d'une de ces cellules, on les voit s'allonger, grossir et absorber peu à peu la substance du corps de la cellule, de telle sorte que finalement celui-ci est déplacé.

Dans les préparations conservées quarante-huit heures et même trois jours, les cellules lymphatiques ont encore des mouvements manifestes, et même si, du huitième au dixième jour, les cellules sont devenues immobiles, on peut réveiller les mouvements de quelques-unes en chauffant la préparation.

De ces diverses expériences on peut conclure que l'oxygène de l'air est nécessaire, non seulement pour déterminer les mouvements des cellules, mais même pour leur conserver une vie latente.

Action combinée de l'air et de la chaleur. — Il faut essayer maintenant l'action combinée de l'air et de la chaleur sur une goutte de lymphe, en mettant la chambre humide dans la platine chauffante. Comme, dans la chambre humide, il y a une distance très appréciable entre le disque sur lequel est disposée la goutte et la lamelle qui la recouvre, l'objectif ne fait pas voir à la fois toute l'épaisseur de cette goutte. Suivant sa position, il donne successivement l'image nette de la couche supérieure du liquide immédiatement au-dessous de la lamelle, celle de la partie appliquée immédiatement sur le disque, enfin celle de la couche moyenne.

Or, sous l'influence combinée de l'air et de la chaleur, à partir de 20 à 25 degrés, les cellules lymphatiques se comportent très différemment dans ces trois couches. Dans la couche supérieure, immédiatement sous la lamelle, les cellules ont des formes bizarres, des prolongements effilés, au moyen desquels elles s'appliquent, comme par des tentacules, à la face inférieure de la lamelle et s'y cramponnent ; ces prolongements sont souvent nombreux et ramifiés. Dans la couche moyenne, les cellules flottantes sont plutôt rondes et ont tout au plus un ou deux prolongements en forme d'aiguilles. Dans la couche inférieure, les cellules s'accroissent beaucoup en dimension ; elles deviennent de larges plaques plus ou moins sinueuses, dans lesquelles se distinguent assez bien un ou plusieurs noyaux. Ce n'est pas à une modification chimique ou vitale qu'est due ici la netteté avec laquelle apparaît le noyau, mais simplement à une modification physique. Dans la cellule flottante et ronde, le noyau, environné de protoplasma de toutes parts, est invisible; ici la cellule, arrivée sur la lame, s'est étalée, et le noyau, recouvert d'une couche de protoplasma plus mince, est, par suite, plus apparent.

Absorption des globules rouges. — Si l'action de la chaleur est poursuivie pendant un certain temps, l'activité des cellules lymphatiques devient telle que des portions de globules rouges, situées au voisinage de leurs prolongements, sont absorbées par ces derniers : on en reconnaît dans l'intérieur de quelques cellules lymphatiques des fragments arrondis qui se décèlent par leur couleur ou par leur réfringence spéciale.

L'activité des cellules est d'autant plus considérable que la température est plus élevée, et cela jusqu'à environ 40 degrés. Si cette limite est dépassée et si la température atteint 42 ou 45 degrés, les cellules lymphatiques sont tuées et reviennent à la forme ronde. Celles qui se trouvaient appliquées à la face inférieure de la lamelle par leurs prolongements se rompent à leur niveau et retombent dans la masse liquide; les fragments de prolongements restés adhérents se détachent à leur tour et forment de petites boules entraînées çà et là par les courants liquides que produit dans la préparation l'inégalité de température des différentes parties. Toutes les cellules redeviennent rondes ; leurs noyaux et leurs granulations apparaissent nettement [1].

Absorption des matières pulvérulentes. — Les cellules lymphatiques absorbent, non seulement des fragments de globules rouges, mais tous les fragments pulvérulents qui se trouvent à leur portée. Pour s'en convaincre, il faut, avant de prendre de la lymphe à une grenouille, injecter dans son sac lymphatique dorsal du vermillon très fin ou toute autre substance pulvérulente reconnaissable par sa coloration. Si, au bout de quelques minutes, on recueille de la lymphe dans ce même sac, les cellules lymphatiques examinées présentent des grains colorés dans leur intérieur. Une expérience encore plus instructive consiste à mêler quelque peu de vermillon très fin à la lymphe quand elle est sur la lame de verre. Les cellules lymphatiques voisines de granulations leur envoient des prolongements qui les entourent peu à peu, les englobent, et finissent par les faire pénétrer dans leur intérieur. Toutes les cellules lymphatiques ne sont pas suffisamment actives pour absorber ces granulations, mais il s'en trouve toujours sur lesquelles on peut observer ce phénomène.

Pénétration dans les corps poreux. — Les mouvements des cellules lymphatiques les portent non seulement à absorber des corpuscules voisins, mais aussi à pénétrer dans des corps poreux. Introduisons dans le sac lymphatique dorsal d'une grenouille, par une incision faite à la peau, un petit fragment de moelle de sureau. Si nous le retirons vingt-quatre heures après,

1. Les courants d'induction appliqués avec le porte-objet électrique produisent à peu près le même effet que la chaleur exagérée, en ce sens qu'ils déterminent la mort de la cellule, qui par conséquent redevient sphérique et laisse voir le noyau et les granulations qu'elle contient. Cependant, si le courant d'induction n'a pas une intensité et une durée suffisantes pour déterminer la mort de la cellule, celle-ci revient bien à la forme sphérique, mais elle n'est pas morte, car, abandonnée à elle-même, elle manifeste de nouveau sa vie au bout de quelques instants par des mouvements amiboïdes (voy. *Rollett*, Stricker's Handbuch, p. 302). Dans cette expérience, il me paraît impossible de se mettre complètement à l'abri de l'action électrolytique du courant; dès lors, au niveau des lames d'étain, on observe des altérations des éléments qui surviennent sous l'influence de l'acidité ou de l'alcalinité du milieu, déterminées par le passage du courant électrique.

nous constaterons que la lymphe l'a complètement imbibé. L'air que contenaient ses cellules a été remplacé par du plasma lymphatique. Pour étudier la disposition de la lymphe dans le fragment de moelle de sureau, faisons-y rapidement des coupes avec un rasoir non mouillé; plaçons-les sur une lame de verre, recouvrons d'une lamelle et bordons à la paraffine.

Les grandes cellules polygonales de la moelle de sureau sont remplies de cellules lymphatiques, mais pas toutes également. La première rangée de ces cellules en contient beaucoup; la paroi des cellules de moelle en est couverte, et elles ont des formes diverses qui témoignent de leur vitalité. Dans la seconde rangée des cellules de la moelle de sureau, on trouve des cellules lymphatiques en nombre presque aussi grand, accolées aux parois et

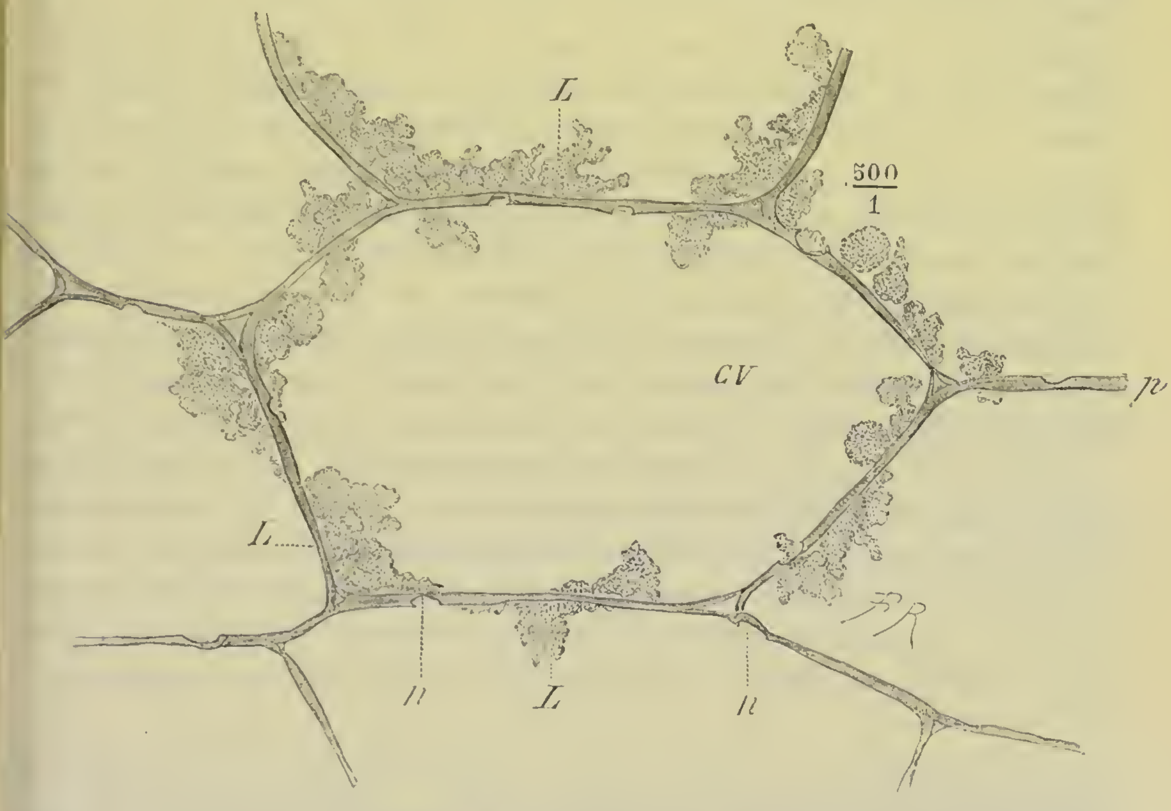


Fig. 52. — Une cellule d'un fragment de moelle de sureau ayant séjourné vingt-quatre heures dans le sac dorsal de la grenouille. — Coupe faite au rasoir, étudiée sans addition d'aucun liquide. — CV, cavité de la cellule; L, cellules lymphatiques; *n*, canaux poreux.

présentant des formes diverses. Mais en considérant la troisième et la quatrième rangée de cellules de la moelle de sureau, les cellules lymphatiques se trouvent de moins en moins abondantes; elles ne sont plus étalées sur les parois, affectent des formes plutôt sphériques, et, à mesure que l'on inspecte des parties plus rapprochées du centre du fragment de moelle de sureau, il s'en trouve un certain nombre dont les noyaux sont apparents et qui présentent des granulations graisseuses. De cette observation, il résulte qu'aux bords de la moelle les cellules ont conservé leur vitalité, tandis que celles qui sont logées dans l'intérieur sont paralysées ou mortes par asphyxie. Or, on sait que les cellules de la moelle de sureau commu-

niquent entre elles au moyen de canaux poreux. Il faut donc admettre que les cellules lymphatiques, arrivées directement à la périphérie de la moelle, y ont cheminé grâce à leur vitalité propre jusqu'aux pores intercellulaires et les ont traversés, gagnant ainsi de couche en couche l'intérieur du fragment. Mais, à mesure qu'elles s'éloignent du milieu oxygéné, elles perdent la vitalité qui permettait leur mouvement, ce qui fait que vers le centre du fragment de moelle de sureau il n'y a plus que des cellules mortes [1].

Lymphe de l'écrevisse et du homard. — Chez l'écrevisse et le homard, la lymphe présente certaines particularités intéressantes. Pour l'obtenir, après avoir essuyé l'animal pour éviter le mélange de l'eau, on fait un trou dans sa carapace, et le liquide qui s'en écoule est aisément recueilli sur une lame de verre.

Outre les cellules lymphatiques ordinaires, ce liquide présente de grandes cellules arrondies remplies de granulations très réfringentes et disposées autour du noyau. Ces granulations laissent entre elles et le contour de la cellule un bord clair qui pourrait faire croire à une membrane. Au bout de quelques secondes, ces cellules envoient des prolongements amiboïdes en forme de piquants; ils s'étendent lentement, arrivent à être deux ou trois fois plus longs que la cellule, et se subdivisent en ramifications plus fines; les prolongements de plusieurs cellules voisines s'enchevêtrent, de telle sorte que ces cellules, jointes entre elles, semblent former une seule masse granuleuse des bords de laquelle partent des prolongements. Les granulations de ces cellules passent en partie dans les prolongements, et en partie restent autour du noyau. Elles se colorent en rouge par le carmin, et en rouge brun par le picrocarminate d'ammoniaque. Elles ne sont donc ni des granulations protoplasmiques ordinaires, ni des granulations graisseuses, car ni les unes ni les autres de ces dernières ne se colorent en rouge par le carmin. Leur nature chimique est encore indéterminée; mais les réactions qu'elles pré-

1. Il y a quelques années déjà que Wagner et Middeldorf (*Pitha* et *Billroth*, Handbuch der Chirurgie, 1865. vol. I, p. 538) ont parlé de la transformation graisseuse que subissent les corps spongieux introduits dans l'organisme. Suivant ces auteurs, les transsudats de l'économie, après avoir pénétré dans les interstices du corps spongieux, se transformeraient en graisse. D'après ce que nous venons de dire, cette graisse se produit dans les cellules lymphatiques elle-mêmes, qui, après avoir pénétré dans les corps spongieux, y subissent la dégénérescence graisseuse.

On nous a objecté que les cellules observées dans la moelle du sureau ou dans d'autres corps spongieux n'y seraient pas immigrées, mais se développeraient spontanément par autogenèse dans le blastème qui se serait infiltré; cette théorie ne rend pas compte de la différence que nous avons rencontrée dans le nombre et l'aspect des cellules suivant les couches successives de l'objet spongieux. Mais ce qui prouve l'immigration directe des cellules lymphatiques, c'est l'expérience suivante :

Un morceau de *Laminaria digitata*, c'est-à-dire un corps spongieux dont les alvéoles ne sont pas communicants, est introduit dans un sac lymphatique. Au bout de deux jours, il en est sorti et traité comme le fragment de moelle de sureau dont nous avons parlé. Les cellules végétales qui sont sur le bord et qui se trouvaient ouvertes à l'extrémité du fragment de *Laminaria*, sont pleines de cellules lymphatiques; celles qui sont demeurées fermées de toutes parts, bien que remplies de liquide, ne contiennent pas une seule cellule lymphatique. C'est donc bien l'accès du dehors qui est la condition de leur présence.

sentent sont les mêmes que celles des *corpuscules vitellins* (corpuscules du jaune de l'œuf) des raies, des torpilles, des squales, des grenouilles. Ces corpuscules présentent des différences de forme suivant les animaux : tantôt ovalaires, tantôt polyédriques, ils paraissent constitués par des lames superposées et se colorent, comme les granulations dont nous venons de parler, en rouge brun par le picrocarminate.

Lymphe des animaux à sang chaud. — Nous avons indiqué plus haut (p. 129) les procédés à employer pour recueillir de la lymphe, soit dans le canal thoracique, soit dans les cavité séreuses des animaux à sang chaud, et spécialement du chien et du lapin.

Chez le lapin, tous les liquides cavitaires (lymphe péricardique, lymphe péritonéale, etc.) se coagulent lorsqu'ils sont sortis de l'organisme, comme la lymphe du canal thoracique. Chez le chien, le liquide péricardique ne se coagule pas.

Cellules lymphatiques. — *Nombre.* — Le nombre des cellules lymphatiques des animaux à sang chaud est très variable. Nous avons fait à ce sujet quelques observations dont voici les résultats :

Chez un chien, il y avait dans la lymphe du canal thoracique 4800 cellules par millimètre cube, tandis que chez un autre chien ce nombre était de 7500. Le sang de ce dernier animal, contenait un nombre de globules blancs beaucoup plus considérable, 25 000 par millimètre cube. Dans la lymphe du canal thoracique d'un lapin, il y avait 11 500 cellules par millimètre cube; le sang contrairement à ce que nous avions observé chez le chien, était moins riche en globules blancs, 7500 par millimètre cube[1].

Dimensions. — Tandis que les cellules lymphatiques ont chez les grenouilles des dimensions peu variées, elles montrent chez les mammifères de notables différences de grandeur. C'est ainsi que le diamètre des cellules de la lymphe du canal thoracique du chien, varie entre 5 et 12 μ[2].

Dans les cavités séreuses, les dimensions des cellules lymphatiques diffèrent encore plus que dans le canal thoracique; elles vont depuis 5 μ jusqu'à 20 μ.

Influence de la chaleur. — Les cellules lymphatiques des animaux à sang chaud ne présentent généralement pas de mouvements amiboïdes à la température ordinaire[3]. Il faut soumettre la lymphe à l'influence de la chaleur pour voir apparaître nettement ces mouvements. En plaçant des préparations de lymphe de lapin dans la platine chauffante on voit les cellules émettre des prolongements lorsque le thermomètre indique 20 degrés centigrades. Ces

1. Nous reviendrons sur ces chiffres et sur le procédé dont on se sert pour compter les globules, à propos de la numération des globules rouges et des globules blancs du sang.

2. Nous nous servirons de la lettre grecque μ pour désigner le millième de millimètre, qui est l'unité de longueur la plus couramment employée par les histologistes.

3. Cependant, sur une préparation de lymphe de lapin conservée dans une chambre humide à la température de l'appartement (15 degrés) et ayant été refroidie pendant la nuit jusqu'à 6 ou 7 degrés, nous avons constaté, le lendemain, des mouvements amiboïdes faibles, mais évidents, à la température de 16 degrés.

prolongements se manifestent aussi bien dans les petites cellules que dans les grosses, et même les petites paraissent se mettre en mouvement plus rapidement que les grandes. A mesure que la température s'élève, ces mouvements s'accentuent et se produisent plus rapidement : vers 56 ou 57 degrés, il n'est plus nécessaire de dessiner les éléments pour se rendre compte de leurs changements de forme; sans quitter des yeux les cellules, on voit leurs prolongements se former, s'allonger, disparaître, pour se développer d'un autre côté, comme nous l'avons observé dans la lymphe de la grenouille; les cellules se déplacent et peuvent traverser en peu de temps le champ du microscope. Mais ici les prolongements ne sont ni aussi longs, ni aussi étalés que ceux que nous avons décrits plus haut; ce sont ou bien des bourgeons plus ou moins obtus, ou bien des arborisations filiformes.

Si l'on continue à élever la température, on reconnaît qu'au-dessous de 40 degrés les cellules éprouvent une transformation subite, les unes plus tôt, les autres plus tard; elles reprennent la forme ronde, deviennent moins réfringentes et le noyau y apparaît nettement, ainsi que les granulations. Nous n'avons pu remarquer aucun rapport entre la dimension des cellules et leur résistance plus ou moins prolongée à l'action de la chaleur.

Influence de l'oxygène. — L'oxygène exerce sur la vie des cellules lymphatiques des animaux à sang chaud une influence analogue à celle que nous avons décrite plus haut à propos des cellules de la grenouille. Pour étudier cette action, il faut faire deux préparations de lymphe de chien, l'une à la façon ordinaire, l'autre dans la chambre humide que nous avons décrite plus haut. Dans la première, quarante-huit heures après, la plupart des cellules lymphatiques sont mortes; leur noyau est nettement apparent. En exposant la lymphe dans la platine chauffante à une température de 56 à 57 degrés, ces cellules ne présentent plus aucun mouvement. La seconde préparation, conservée à une température variant entre 7 et 15 degrés pendant trois jours, montre encore, au bout de ce temps, lorsqu'on la place dans la platine chauffante à la température de 56 degrés, des cellules qui ont manifestement des mouvements amiboïdes. Il y en a fort peu de mortes, c'est-à-dire fort peu qui soient immobiles et qui présentent un noyau apparent. L'oxygène est donc tout aussi indispensable à la vie des cellules lymphatiques chez les animaux à sang chaud que chez les animaux à sang froid : même à une basse température, à laquelle on ne distingue aucune manifestation de leur vitalité, ce gaz est nécessaire pour leur conserver une vie latente, qui pourra se réveiller par l'excitation de la chaleur. Au contraire, lorsque l'oxygène est absent ou ne se trouve qu'en quantité très petite dans le plasma de la lymphe, la vitalité des cellules se manifeste à peine, même à une température relativement élevée. C'est ce que l'on constate par l'expérience suivante :

Après avoir dégagé chez un chien le canal thoracique, on y fait une petite incision, et on y introduit un tube capillaire aplati sur deux faces opposées. A l'extrémité libre de ce tube est adapté un tube de caoutchouc à parois

assez résistantes. On applique la bouche à ce dernier tube, et on aspire assez fortement de manière à faire arriver beaucoup de lymphe dans l'appareil, jusqu'à ce qu'il en pénètre une certaine quantité dans le tube de caoutchouc. De cette façon, la lymphe qui s'est trouvée en communication avec l'oxygène de l'appareil est amenée au delà du capillaire artificiel dans lequel, par conséquent, la lymphe est semblable à celle du canal thoracique. Le tube de caoutchouc est alors enlevé, les deux extrémités du capillaire sont fermées avec de la cire à cacheter, et le capillaire est observé dans la platine chauffante. Nous avons constaté que dans ces conditions les mouvements amiboïdes ne se produisent que vers 38 degrés, et qu'ils sont lents et très limités. Cette observation nous montre que dans le canal thoracique les cellules ont une vitalité peu active, en rapport avec le peu d'oxygène que l'analyse chimique décèle dans la lymphe qui circule dans ce canal; nous verrons plus tard combien cette circonstance est importante pour la circulation lymphatique.

Action de l'eau. — Une goutte d'eau ajoutée sur le bord de la lamelle, qui recouvre une préparation de lymphe, en altère peu à peu les cellules; leur protoplasma se gonfle, les noyaux et les granulations deviennent apparents.

Action de l'iode. — L'iode tue rapidement les cellules lymphatiques. Lorsqu'on fait pénétrer une goutte de solution d'iode ou de sérum iodé sous la lamelle qui recouvre une préparation de lymphe, ces cellules se colorent la plupart en jaune, leurs noyaux et leurs granulations apparaissent; quelques-unes présentent la couleur brun acajou, caractéristique de la présence de la matière glycogène, et des excroissances sarcodiques colorées en violet pâle (voy. p. 134). Il y a donc de la matière glycogène dans la lymphe des animaux à sang chaud aussi bien que dans celle de la grenouille.

La matière glycogène se trouve dans les cellules lymphatiques chez les différents animaux en quantité plus ou moins considérable, suivant des conditions qui ne sont pas encore déterminées.

Action des matières colorantes. — Les matières colorantes présentent les mêmes particularités dans leur action sur les cellules dont nous nous occupons que sur celles de la lymphe de grenouille. Le carmin très légèrement ammoniacal et très étendu colore d'emblée environ la moitié des cellules de la lymphe, tandis que l'autre moitié résiste à son action assez longtemps; nous avons même vu dans une préparation de lymphe de lapin, où nous avions introduit du carmin ainsi dilué, quelques cellules demeurées incolores au bout de vingt-quatre heures.

La coloration coïncide avec l'apparition du noyau, c'est-à-dire avec la mort de la cellule; aussi, les cellules mortes se colorent-elles presque instantanément. C'est pour cela que si l'on introduit du carmin dans une préparation qui a été soumise à une température de plus de 42 degrés, tous les globules se colorent immédiatement.

Chyle. — Le chyle n'est qu'une des variétés de la lymphe. Il ne diffère de la lymphe ordinaire que par la présence d'un grand nombre de granula-

tions qui le rendent lactescent. Il existe toujours quelques-unes de ces granulations dans la lymphe, nous en avons même trouvé dans la lymphe d'un chien à jeun depuis huit jours; mais elles sont si nombreuses dans le chyle, qu'elles le rendent opaque. Elles présentent le phénomène du *mouvement brownien*[1]. Elles ne sont pas constituées simplement par de la graisse; d'après H. Müller, elles seraient composées d'une enveloppe albuminoïde limitant une cavité remplie de graisse. Cette opinion repose sur l'action de l'acide acétique sur le chyle. Sous l'influence de ce réactif, la matière albuminoïde étant dissoute, les granulations se réunissent et forment des gouttelettes arrondies nettement graisseuses.

Si l'on met dans un flacon du chyle auquel on ajoute une quantité égale d'éther, et si l'on agite de temps en temps, il reste au fond du flacon un dépôt blanchâtre. En examinant ce dépôt au bout de deux ou trois jours, on y trouve des granulations dont la forme est conservée; mais elles sont beaucoup moins réfringentes. Comme l'éther dissout la graisse, il est évident que ces granulations sont formées en partie d'une matière albuminoïde.

En ajoutant à une goutte de chyle déposée sur une lame de verre une goutte d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, et en fermant la préparation, on remarque au bout d'un ou deux jours que les granulations sont légèrement colorées en brun.

RÉSUMÉ DES NOTIONS ACQUISES SUR LA LYMPHE

Nous allons résumer maintenant les notions que nous avons acquises dans cette étude expérimentale de la lymphe.

La lymphe est formée d'un plasma dans lequel nagent des cellules. Ce plasma baigne, comme nous l'avons dit, tous les organes de l'économie, puisqu'il se trouve dans toutes les cavités séreuses et dans tous les interstices du tissu conjonctif. Le tissu conjonctif, en effet, comme nous le verrons plus tard, environne tous les organes, y pénètre et en constitue la charpente; la lymphe qui se trouve dans ses interstices entoure donc les

1. Le mouvement brownien est un phénomène physique commun à toutes les particules extrêmement petites qui flottent dans un liquide. Les objets sur lesquels on l'observe avec le plus de facilité, et en se rendant le mieux compte de la manière dont il se produit, sont les cristaux de carbonate de chaux qui se trouvent dans le canal vertébral de la grenouille. Après avoir ouvert le canal vertébral sur une petite étendue et en avoir enlevé la moelle, il suffit d'en racler la paroi avec la lame d'un scalpel étroit pour obtenir une matière blanche, à l'aspect grumeleux. Cette matière, délayée sur une lame de verre dans une goutte d'eau, recouverte d'une lamelle et examinée à la lumière polarisée à un grossissement de 300 à 400 diamètres, présente des cristaux brillants ou noirs, suivant leur position. Les plus gros de ces cristaux sont immobiles et conservent le même éclat; mais il se trouve en outre dans la préparation une multitude de cristaux très petits qui changent constamment d'éclat et de couleur: tantôt brillants, tantôt obscurs, ils scintillent comme les étoiles. Cette alternance d'éclat démontre que le mouvement est réel et tient à ce que ces cristaux, se déplaçant sans cesse, tournent dans tous les sens. Ils sont brillants, seulement lorsque leur axe optique, couché sur la platine du microscope, s'écarte des plans de polarisation de l'un ou de l'autre des nicols croisés.

éléments des organes, de sorte que l'on peut dire avec juste raison qu'elle est le milieu liquide dans lequel ces éléments vivent. Les cellules lymphatiques qui sont mobiles dans le tissu conjonctif et dans les cavités séreuses et celles qui circulent dans le système vasculaire lymphatique y vivent au même titre et de la même façon que les éléments de nos organes, avec cette seule différence qu'elles sont mobiles, tandis que les éléments des tissus proprement dits sont maintenus ensemble et demeurent fixes.

Nous aurons à revenir sur cette analogie, lorsque nous traiterons de l'origine des cellules lymphatiques. C'est un point dont nous ne parlerons qu'après avoir fait l'histoire du sang, afin de ne pas séparer, dans l'exposé que nous en ferons, le développement du sang du développement de la lymphe, avec lequel il a beaucoup de rapports. Mais nous pouvons dire dès à présent que les cellules lymphatiques sont très probablement des cellules du tissu conjonctif mobilisées; c'est surtout quand nous aurons fait l'étude détaillée du tissu conjonctif que nous pourrons insister sur cette opinion.

Les cellules lymphatiques sont constituées, comme nous l'avons dit, par des masses de protoplasma se présentant tantôt sous la forme sphérique, tantôt sous les formes les plus bizarres et les plus variées, dépourvues par conséquent de membrane limitante, et contenant dans leur intérieur un ou plusieurs noyaux et des granulations réfringentes plus ou moins fines, plus ou moins nombreuses. Ces cellules ont une grande vitalité qui se manifeste même en dehors de l'organisme. Cette vitalité est une propriété du protoplasma, qui se traduit d'une part par des échanges chimiques, de l'autre par des mouvements amiboïdes. Elle varie d'intensité suivant les conditions où les cellules sont placées, sommeille parfois et disparaît dans des circonstances qui amènent ce que nous nommons la mort des cellules. Nous allons revenir sur ces différents points.

Les cellules lymphatiques agissent sur le plasma de la lymphe à la manière de vraies cellules glandulaires; comme ces dernières, elles extraient de ce plasma, au moyen de leur activité propre, certaines substances qu'elles fixent ou transforment dans leur intérieur, et que l'on peut déceler par les réactions microchimiques. Ainsi, on y rencontre de la graisse, reconnaissable à sa réfringence, à la coloration qu'elle prend par l'acide osmique, etc.; on constate, dans beaucoup d'entre elles, l'existence de la matière glycogène, manifestée par la coloration brun acajou que lui communique l'iode. En outre, nous y avons trouvé, chez les crustacés, des substances non définies, reconnaissables à la couleur particulière que leur donnent certains réactifs. Les matériaux de ces substances ont été tirés du plasma lymphatique et fixés ou transformés dans l'intérieur des cellules par l'activité propre de ces dernières. Les cellules lymphatiques sont, à ce point de vue, des glandes unicellulaires mobiles.

Les mouvements amiboïdes, qui sont la seconde manifestation de la vie des cellules lymphatiques, persistant en dehors de l'organisme dans des conditions favorables de milieu, de température et d'oxygénation, sont, comme nous l'avons vu, faciles à étudier. Ces changements de forme, ces

prolongements poussés dans tous les sens et sur le détail desquels nous ne reviendrons pas, amènent le déplacement des cellules de proche en proche, leur pénétration dans les corps poreux; enfin leur permettent d'absorber, de recueillir dans leur intérieur, non seulement des éléments du liquide qui les baigne, mais même des corps solides qui se trouvent simplement dans leur proximité, comme des fragments de globules rouges ou des granules de vermillon.

Le milieu qui permet la continuation des mouvements en dehors de l'organisme est le plasma de la lymphe. Il faut en outre un certain degré de température : chez les animaux à sang chaud, nous avons vu les mouvements se manifester avec intensité vers 30 degrés; nous n'avons pas constaté la limite inférieure à laquelle ils apparaissent chez les animaux à sang froid. Ces mouvements sont d'autant plus vifs que la température est plus élevée, et cela jusqu'à la limite de 40 degrés.

Outre un certain degré de chaleur (variable suivant les animaux), l'oxygène est nécessaire pour conserver la vie des globules, et sa présence en active les manifestations : nous avons vu que les cellules lymphatiques de la grenouille vivent plus de huit jours dans une chambre humide, celles du lapin, plus de quatre jours.

L'absence des mouvements ne prouve point que les cellules ne soient pas en vie; elles peuvent rester immobiles et sphériques pendant plusieurs jours, par exemple sous l'influence du froid, et conserver une vie latente que l'on fera manifester plus tard à l'aide de l'oxygène et de la chaleur. Les cellules mortes diffèrent des vivantes non seulement parce qu'elles ne peuvent plus se mouvoir, mais encore par leur aspect. Elles ont une réfringence moins grande, leurs noyaux et leurs granulations sont apparents; les matières colorantes les pénètrent immédiatement.

De l'exposé qui précède, nous pouvons tirer quelques considérations physiologiques et pathologiques intéressantes. Nous avons vu (p. 150) que, la lymphe du canal thoracique étant à peu près dépourvue d'oxygène, les cellules devaient y présenter la forme sphérique et y avoir une vie relativement latente, ne pas pousser de prolongements, ne pas s'accoler aux parois, etc. Cette condition est très importante pour la circulation dans le système lymphatique. En effet, comme la tension y est extrêmement faible et le mouvement du liquide très lent, si les cellules y poussaient des prolongements et adhéraient aux parois comme nous les avons vues faire sur la lame ou la lamelle dans la chambre humide, elles s'accumuleraient en certains points, y détermineraient des obstructions, et la circulation de la lymphe deviendrait difficile. Comme les cellules se trouvent au contraire à peu près dépourvues d'oxygène dans le système vasculaire lymphatique, elles y conservent la forme sphérique et y circulent facilement. Une fois arrivées dans le sang, elles retrouvent un milieu oxygéné dans lequel elles peuvent reprendre leur vitalité première. Mais ici la rapidité du courant les entraîne et les empêche de se fixer et de s'accumuler de manière à produire des obstructions. Il serait intéressant d'observer directement ces faits dans les

canaux lymphatiques eux-mêmes et de vérifier l'exactitude de ces déductions; mais il est bien difficile de trouver un organe sur lequel l'expérience soit possible.

Lorsque les cellules sont restées pendant un à plusieurs jours privées des échanges qui sont nécessaires à leur vitalité, elles passent, comme nous l'avons vu, de l'état de vie latente à l'état de mort. C'est ce qui arrive dans l'organisme aux cellules lymphatiques accumulées en grand nombre dans les foyers inflammatoires. Elles y restent amassées, et leur inertie ou leur mort les empêche d'émigrer ailleurs, tandis que de nouvelles cellules viennent s'adjoindre aux premières. C'est ainsi que se forment les abcès. La présence des granulations graisseuses dans les globules de pus est la suite d'un ralentissement dans les fonctions vitales des cellules lymphatiques.

La nécessité de l'oxygène pour conserver leur activité vitale aux cellules lymphatiques nous donne l'explication d'un fait que nous avons signalé autrefois, et dont nous ne comprenions pas alors la raison. Lorsqu'on met sous la peau d'un animal de petits morceaux de phosphore, il ne se produit autour de ces fragments aucune suppuration, c'est-à-dire aucune accumulation de la lymphe. Cela tient à ce que le phosphore, très avide d'oxygène, l'absorbe plus rapidement que ne le font les éléments lymphatiques; ces derniers, privés d'oxygène dans une certaine zone autour des fragments de phosphore, ne posséderaient plus de mouvements amiboïdes et ne pourraient sortir des vaisseaux (voy. *Capillaires sanguins*).

L'influence de la chaleur sur l'activité des cellules explique comment on peut prévenir des accumulations de lymphe sur certains points de l'économie en abaissant la température de ces points. Au-dessous de 20°, ces cellules ne poussent plus de prolongements, ne changent plus de forme, ne s'appliquent plus sur les parois des vaisseaux ou des cavités qui les contiennent, et ce n'est qu'à une température supérieure à 35° ou 36° que leurs mouvements sont assez énergiques pour les faire sortir des vaisseaux et cheminer à travers les tissus. Ces données nous font comprendre comment l'application de la glace, connue depuis longtemps des chirurgiens, exerce une action salutaire contre la suppuration.

CHAPITRE II

SANG

Nous ne parlerons ici que du sang rouge des animaux vertébrés. Le liquide transparent et incolore que l'on désigne chez les invertébrés sous le nom de sang n'est en effet autre chose que de la lymphe, et nous renvoyons pour son étude au chapitre précédent. Le système vasculaire sanguin est un appareil

de perfectionnement destiné à permettre un échange plus continu et plus rapide des matériaux de l'économie, soit entre eux, soit avec les gaz du milieu ambiant.

Le sang est rouge et liquide au sortir des vaisseaux; abandonné à lui-même, il se prend en masse au bout d'un temps assez court et qui varie suivant les espèces d'animaux, suivant les individus et suivant une série d'autres circonstances encore imparfaitement déterminées. Puis, le caillot revient sur lui-même, et, en se rétractant, laisse transsuder un liquide jaunâtre qu'on appelle le sérum. Le plus généralement, le caillot est rouge, mais il arrive dans certaines conditions, par exemple lorsque la coagulation se fait lentement, qu'une partie de ce caillot est blanche; elle forme ce que l'on nomme la couenne.

Si l'on bat le sang avec un balai ou avec une baguette lorsqu'il sort du vaisseau, il s'attache à l'instrument des filaments blanchâtres, et le sang qui reste ne se coagule plus. C'est donc à cette substance filamenteuse, à la *fibrine*, qu'est due la coagulation du sang. On ne sait pas encore aujourd'hui quelle est la cause qui produit de la fibrine solide, soit au dehors, soit au sein de l'organisme[1].

1. La cause de la coagulation du sang est une question qui, de tout temps, a préoccupé les médecins. Jusqu'à Hunter, on s'est contenté de l'explication d'Hippocrate (*Œuvres*, trad. Littré, 1855, vol. VIII, p. 576), qui admettait comme causes de la coagulation le repos et le refroidissement. Hunter (*Œuvres*, traduction Richelot, Paris, 1840, t. III, p. 46), en agitant du sang dans une bouteille, démontra qu'il se coagulait plus vite que le sang laissé au repos. D'autre part, J. Davy (*Obs. on the coagulation of the Blood*, *Edinb. Med. and Surg. Journal*, 1828, vol. XXX, p. 251) a prouvé que le froid, loin d'amener la coagulation, la retarde. Ainsi du sang, à la température de 0°, reste liquide pendant une heure; du sang congelé pendant une demi-heure redevient liquide quand on le fait dégeler.

On a ensuite admis comme cause de la coagulation le contact de l'air. Hewson (*Properties of the Blood*, in the Works, London, 1846, p. 18), dans le but de s'en assurer, mit trois ligatures sur la veine jugulaire d'un lapin, de manière à en délimiter deux portions distinctes; il ouvrit l'une de ces portions, laissa le sang s'écouler et l'air y pénétrer, puis, refermant par une nouvelle ligature la portion de la veine où était entré de l'air, il la mit en communication avec la portion voisine où se trouvait du sang, et constata qu'au bout de cinq minutes ce sang était coagulé. D'autre part, Scudamore (*Essay on the Blood*, 1825, p. 24), mettant du même sang dans un flacon ouvert et dans un flacon fermé, constata que le sang se coagulait plus lentement dans le flacon fermé, d'où il conclut que l'air favorise la coagulation; mais ce qui prouve à l'évidence contre Hewson et Scudamore que l'air n'est pas la cause de la coagulation, c'est que le sang se prend en masse, même dans le vide barométrique.

D'autres ont admis que les vaisseaux exercent une action spéciale. Ainsi, d'après Malgaigne (*Anatomie chirurgicale*, 2e édit., t. I, p. 485), il se ferait à la surface interne des vaisseaux une exsudation particulière qui empêcherait la coagulation.

Pour Brücke (*Bristish and foreign Medico-Chirurgical Review*, January, 1857, cité dans le *Journal de la physiologie*, t. I, 1858, p. 820), c'est l'action de la paroi même des vaisseaux qui empêche la coagulation. Cet observateur ayant laissé du sang dans un cœur de tortue, ce sang est resté liquide à + 1° pendant huit jours, à + 10° pendant trois jours, à + 24° pendant vingt-quatre heures, le cœur étant parfaitement en repos. Cependant, dans certaines circonstances, le sang se conserve très longtemps liquide dans l'organisme, en dehors même des vaisseaux.

D'après Richardson (*The cause of the coagulation of the Blood*, Lond., 1858, et *Journal de physiologie*, t. I, p. 389), la fluidité du sang à l'intérieur de l'organisme est due à la présence d'une petite quantité d'ammoniaque. Une fois le sang sorti des vaisseaux, cette ammoniaque s'évapore et le sang se coagule. Il suffit, pour démontrer la fausseté de

La couleur rouge du caillot est due aux globules rouges, qui contiennent une substance colorante particulière, l'*hémoglobine*, dont l'étude n'a été bien faite que depuis que l'on y a appliqué la spectroscopie. Pour séparer cette substance, il suffit d'ajouter de l'eau au sang; le liquide, d'opaque qu'il était, devient transparent, la matière colorante se dissout dans l'eau, tandis que le stroma des globules reste en suspension dans le liquide. Nous parlerons plus tard, à propos de l'analyse spectroscopique du sang, de la forme cristalline de l'hémoglobine et de son état dans le sang.

Outre la fibrine et les globules, le sang contient de l'albumine, des matières grasses, des matières sucrées, etc.[1]

ÉTUDE HISTOLOGIQUE EXPÉRIMENTALE DU SANG

Pour se procurer la petite quantité de sang nécessaire pour l'examen histologique, il suffit d'une piqûre à la peau.

cette manière de voir, de faire remarquer que le sang se coagule aussi à l'intérieur de l'organisme.

Il y a quelques années, A. Schmidt (*Ueber den Faserstoff und die Ursachen seiner Gerinnung*, *Arch. Reichert et du Bois Reymond*, 1861, p. 546) a prétendu que la coagulation de la fibrine se produisait par le mélange d'une matière *fibrinogène* qui se trouverait dans le sérum, et d'une matière *fibrino plastique* qui se trouverait dans différentes parties de l'organisme, et entre autres dans les globules rouges du sang. Une petite quantite de cette matière suffirait poir déterminer la formation de la fibriee.

Plus récemment, en présence du fait de la conservation à l'état liquide de collections sanguines dans l'économie, comme ces collections contiennent dans le sérum de la substance fibrinogène et dans les globules de la substance fibrinoplastique qui doit être mise en liberté par l'altération de ces derniers, Schmidt s'est trouvé conduit à modifier sa première hypothèse, et aujourd'hui il admet que, pour déterminer la formation de la fibrine, il faut, outre les deux substances en question, l'action d'un ferment spécial qui se trouverait dans le sang. (Voy. *Centralblatt*, 1872, p. 245).

En résumé, la cause de la coagulation du sang est encore inconnue; on ne sait pas si la fibrine ne se forme qu'au moment où le sang se coagule, ou si elle existe dans le sang liquide, soit à l'état liquide, soit à un état de division tel qu'elle n'empêche pas la fluidité du sang. Du reste, nous indiquerons plus loin, dans le cours de ce chapitre, quelques phénomènes qui peuvent jeter un certain jour sur la question.

1. Nous ne saurions entrer ici dans tous les détails au sujet de la composition chimique du sang. D'après Dumas, 1000 parties de sang contiennent :

Eau	790
Globules	127
Fibrine	3
Albumine	70
Matières grasses et sels	10

Les analyses modernes ne diffèrent pas beaucoup de celle-là. Du reste, comme la composition du sang varie suivant le vaisseau où on le prend, il ne peut jamais être question que d'une moyenne.

Outre ces parties constituantes, le sang contient des gaz. Sur 100 volumes de sang, il y a :

Oxygène	10 à 17 volumes.
Acides carbonique	26 à 38
Azote	1 à 2

Richardson y a signalé des traces d'ammoniaque; on en trouve en effet quand on traite le sang par la chaleur. Mais il n'est pas prouvé qu'il en existe auparavant.

Chez l'homme, cette piqûre se fait en général à l'extrémité du doigt qui a été préalablement serré par un lien, de manière à y accumuler le sang. Il est nécessaire de nettoyer avec le plus grand soin l'aiguille que l'on emploie à cet usage et de la tremper dans l'alcool fort immédiatement avant de s'en servir.

Chez le chien et le lapin, le moyen le plus simple pour obtenir une goutte de sang consiste à piquer une veine de l'oreille, tandis que l'on en comprime la base pour y faire affluer le sang[1].

Chez la grenouille, la façon de se procurer du sang est un peu plus compliquée, lorsqu'on tient à l'avoir bien pur. Une incision à la peau ou la section d'un des doigts de la patte fournirait un liquide contenant presque autant de lymphe que de sang. Pour avoir du sang pur, il faut employer le procédé suivant :

Après avoir immobilisé la grenouille en liant ses pattes abdominales étendues avec un fil enroulé en spirale et en attachant derrière le dos ses pattes thoraciques, on fait avec des ciseaux une incision à la peau au niveau du sternum, puis on coupe transversalement cet os au niveau de sa symphyse inférieure, on le dégage latéralement et on en résèque une partie; le cœur enveloppé du péricarde apparaît alors dans le fond de la plaie. On incise le péricarde; le cœur s'échappe de la cavité viscérale et vient faire saillie au dehors. On en coupe la pointe d'un coup de ciseau au-dessus d'un verre de montre, et le sang vient y tomber goutte à goutte. Si l'on veut faire une série d'observations sur les globules du sang, il est bon de défibriner le sang par le battage et de placer le verre de montre qui contient le sang défibriné sous une petite cloche, à l'abri de l'évaporation et des poussières.

Quel que soit l'animal dont on examine le sang, il importe que ce liquide soit exposé à l'évaporation le moins longtemps possible, surtout lorsqu'il s'agit d'un animal à sang chaud et qu'on extrait le sang par une simple piqûre. Aussi est-il indispensable, avant de faire la piqûre, d'avoir préparé d'avance une lame de verre ou mieux une lame de glace, et une lamelle bien nettoyée. La lame est approchée de la goutte de sang; elle la reçoit, et l'on applique immédiatement la lamelle par dessus.

Il est nécessaire que la lame et la lamelle soient bien planes, pour que le

1. Pour se procurer une quantité de sang plus considérable, il faut faire une saignée à l'animal. La veine jugulaire est mise à nu et liée. On y fait alors au-dessus de la ligature une incision. Par cette incision, on introduit une canule que l'on fixe sur le vaisseau par une nouvelle ligature. Le sang est reçu dans un vase. Quand on en a obtenu une quantité convenable, la canule est retirée et la ligature est serrée autour du vaisseau. Pour obtenir une grande quantité de sang, la canule doit être placée dans la carotide. A cet effet, après avoir solidement lié l'animal (car il se produit toujours des mouvements convulsifs dans la mort par hémorrhagie), on découvre la carotide, sur laquelle est jetée aussi haut que possible une ligature ; au-dessous est placée une pince à pression continue. Dans la partie de l'artère ainsi fermée est faite une petite incision ; cette incision, agrandie longitudinalement, permet l'introduction dans le bout central de l'artère d'une canule qu'il faut lier sur le vaisseau, et à laquelle est adapté un tube de caoutchouc un peu long. La pince à pression est enlevée et le sang est reçu dans un vase.

Lorsqu'on veut avoir du sérum, il suffit d'abandonner le sang à lui-même ; pour l'étude des globules, il faut le défibriner auparavant par l battage.

sang forme entre elles une couche qui ait partout la même épaisseur. Cette épaisseur varie suivant la quantité de sang qui a été déposée sur la lame; pour l'étude des éléments figurés, il vaut mieux que le sang ne remplisse pas tout l'espace compris entre la lame et la lamelle; il s'étale plus complètement et forme une couche plus mince. Si la quantité de sang est trop considérable, il y a, dans la plupart des points de la préparation, plusieurs étages de globules, et l'observation est rendue plus difficile. Lorsque la goutte de sang est étalée, la préparation est bordée à la paraffine, pour la préserver de l'évaporation.

Si nous plaçons sous le microscope une préparation de sang d'homme faite comme nous venons de le décrire, nous verrons, en la regardant à un grossissement de 500 à 600 diamètres, qu'elle est remplie d'éléments figurés si nombreux, que les espaces intermédiaires sont eux-mêmes microscopiques. Ces espaces, plus ou moins grands suivant la disposition que prennent les éléments, paraissent incolores. Parmi les éléments figurés, les uns, les plus nombreux dans le sang normal, sont colorés en jaune pâle, ce sont les *globules rouges;* les autres, incolores, diffèrent beaucoup plus entre eux, soit par leurs dimensions, soit par leur aspect : il y en a qui ressemblent aux cellules lymphatiques étudiées précédemment (*globules blancs*); d'autres, beaucoup plus petits, de différentes espèces et de formes variées, sont des granulations sphériques ou de petits fragments anguleux : nous les étudierons sous le nom de *granulations libres*.

Le sang de grenouille contient des cellules lymphatiques et des granulations libres semblables à celles du sang de l'homme. Mais, tandis que, dans le sang de l'homme et des mammifères en général [1], les globules rouges sont discoïdes et ne présentent pas de noyaux, ceux de la grenouille, également colorés en jaune, sont plus grands, de forme elliptique et contiennent un noyau.

Les préparations de sang frais examinées avec attention quelques heures après avoir été faites, présentent, outre les éléments dont nous venons de parler, des filaments réfringents tendus en divers sens, et qui ne sont autre chose que de la fibrine. Nous reviendrons en détail sur leur formation et leur disposition après que nous aurons étudié les globules rouges, les globules blancs et les granulations libres.

Globules rouges. — Les globules rouges sont les éléments les plus importants du sang; leur importance est due à l'hémoglobine qu'ils transportent, et dont le rôle est essentiel pour l'échange des gaz dans tout l'organisme. Nous les étudierons au double point de vue de leur forme et de leur constitution, en commençant par les globules discoïdes des mammifères.

Globules discoïdes. — Si nous examinons les globules rouges dans une préparation de sang d'homme, faite comme nous l'avons dit, et en ayant le soin de mettre sur la lame de verre une fort petite quantité de sang, de

1. Les globules rouges sont discoïdes chez les mammifères, excepté chez le chameau et le lama; ils ont la forme d'un ovoïde aplati chez les oiseaux, chez les amphibies et chez la plupart des poissons.

couvrir immédiatement avec une lamelle bien plane et de border à la paraffine, nous verrons ces globules rouges se présenter sous différentes formes. Les uns sont franchement circulaires; d'autres paraissent plus ou moins ovales; d'autres enfin sont plus colorés, minces, allongés et renflés à leurs extrémités; ils ont une forme de bissac. On peut faire mouvoir facilement les globules dans le champ du microscope, en appuyant légèrement sur un point de la lamelle qui les recouvre ou simplement en approchant la main d'un des côtés la lamelle, car la chaleur de celle-ci suffit pour déterminer des courants dans la préparation. On s'aperçoit, en suivant de l'œil un même globule dans ses mouvements, qu'il prend successivement les formes que nous venons d'indiquer; circulaire et pâle d'abord, il devient de plus en plus ovale, et finit par présenter la forme en bissac, à mesure qu'il change de position par rapport à l'œil de l'observateur. Il est très facile de



Fig. 53. — Globules rouges et blancs du sang de l'homme (grossissement de 1000 diam.).
a. globule rouge vu de face; *b*. vu de profil; *c*. en pile; *d*. vu de trois quarts; *e*. *f*. épineux; *g*. sphérique; *m*. crénelé. — L. grosse cellule lymphatique du sang; *l*. petite cellule lymphatique; *p*. cellule lymphatique granuleuse; *n*. granulations libres.

déduire, de la comparaison de ces trois aspects, la forme réelle de ce globule : c'est un disque renflé sur ses bords. Lorsque le globule est vu de face, le renflement des bords se reconnaît aux différences d'aspect qu'il présente suivant la position de l'objectif. Après que l'on a bien mis au point, lorsque l'on éloigne l'objectif, le bord du globule devient brillant et son centre obscur (*a*, fig. 54); lorsque l'on rapproche l'objectif, le centre devient brillant et le bord obscur (*b*, fig. 54).



Fig. 54. — Le même globule du sang de l'homme, vu en éloignant l'objectif (*a*), et en le rapprochant (*b*). — Grossissement 1000 diam.

En continuant d'observer la préparation, on remarque que les globules flottant dans leur plasma se déplacent, paraissent s'attirer les uns les autres, et viennent s'accoler par leurs faces, de manière à former des séries analogues aux piles de monnaie (fig. 53, *c*). Ces piles sont réunies entre elles sous les angles les plus variés, et, au bout de peu de temps, le plus grand nombre des globules de la préparation se trouve disposé de cette façon.

La cause de l'empilement des globules est encore discutée; il paraît certain que leur accolement n'est pas dû à la fibrine, car les piles de globules se forment également dans une préparation faite avec du sang défibriné. Cet arrangement tient probablement, comme le dit Welcker, à l'attraction que subissent tous les corps plats mobiles dans un liquide; ils tendent toujours à se mettre en rapport par leur plus grande surface. En effet, les globules arrangés en piles ne sont pas agglutinés; on peut facilement, par une pression exercée sur la lamelle, les séparer les uns des autres; on les voit ensuite se réunir pour former de nouvelles séries.

En outre des globules rouges discoïdes, qui ont un diamètre de 7 à 8 μ, il se présente dans la préparation des globules plus petits, de 5 μ de diamètre (*g*, fig. 55). Ces globules sont sphériques: en roulant dans la préparation, ils ne changent ni de forme ni de coloration: plus foncés que les globules discoïdes vus à plat, ils sont plus clairs que ces mêmes globules vus de champ, ce qui s'explique simplement par des différences d'épaisseur.

Après avoir constaté la forme que présentent les globules discoïdes normaux dans une préparation fraîche, il nous reste à étudier les diverses modifications qu'ils subissent dans une préparation de sang frais abandonnée à elle-même, soit par l'action de l'air ou sous l'influence de divers liquides, soit enfin par la dessiccation, par l'action de la chaleur, de l'électricité et du froid.

Une préparation de sang d'homme, fermée à la paraffine et abandonnée à elle-même à la température ordinaire (+ 12 à 15° C.) pendant vingt-quatre heures, présente, au bout de ce temps, un certain nombre de globules rouges crénelés sur les bords (*m*, fig. 55). Les globules sphériques sont devenus beaucoup plus nombreux qu'à l'état frais; quelques-uns (*e*, *f*, fig. 55) montrent à leur surface des épines qui sont bien différentes des crénelures des globules restés discoïdes. Quelques globules sont en forme de calotte; enfin quelques-uns, vus de profil, ont une forme en bissac exagérée : ils se présentent comme des haltères, c'est-à-dire comme deux boules réunies ensemble par une tige.

Quelques-unes de ces transformations se produisent plus rapidement dans d'autres conditions : ainsi, il suffit de laisser la goutte de sang une demi-minute à l'air avant de la recouvrir de la lamelle, pour que les globules crénelés et épineux soient très nombreux. D'autre part, la transformation des globules discoïdes en sphériques s'opère sur presque tous au bout de vingt-quatre heures, si, au lieu d'être faite avec du sang pur, la préparation est faite avec un mélange de sang et de plasma sanguin (ce dernier provenant du même sang après coagulation) [1].

L'eau a une action énergique sur les globules rouges. Si l'on met sur le bord de la lamelle avec laquelle on vient de recouvrir une goutte de sang une ou deux gouttes d'eau, elle pénètre par capillarité: les globules discoïdes fuient d'abord avec rapidité sous l'œil de l'observateur et prennent en roulant les aspects variés que nous avons décrits plus haut ; ils s'allongent, s'étirent, se courbent, s'amincissent, suivant les variations du courant. Les globules blancs, au contraire, restent immobiles, quand le courant liquide n'est pas trop fort. Une fois l'équilibre rétabli et les globules à peu près en repos, on aperçoit un fond coloré en jaune sur lequel se détachent des

1. Boettcher (Nachträgliche Mittheilung über die Entfärbung rother Blutkörperchen und über den Nachweis von Kernen in denselben, *Arch. de Virchow*, t. XXXIX, p. 427), en mettant des globules rouges du chat dans de l'humeur aqueuse du même animal en quantité assez abondante pour qu'il y eût seulement 40 globules environ dans le champ du microscope, a vu ces globules devenir sphériques au bout de vingt-quatre heures, puis présenter des granulations ; et enfin il affirme en avoir vu sortir un noyau.

Nous avons répété ces expériences avec de l'humeur aqueuse et avec du sérum, non pas, il est vrai, avec les globules du chat, mais avec ceux du lapin. Ils sont devenus sphériques, mais jamais ils ne nous ont présenté de noyaux.

globules sphériques décolorés, à peines visibles; le ton jaune du liquide est d'autant plus foncé que la préparation est plus épaisse. L'eau a donc dissous la matière colorante des globules et leur a fait prendre la forme sphérique.

Un grand nombre de solutions salines étendues agissent à la façon de l'eau.

L'iode, employé en solution dans les proportions que nous avons indiquées (p. 94) et ajouté à une goutte de sang déjà recouvert de la lamelle, fixe les globules dans leur forme en les colorant en jaune orangé.

L'alcool a sur les globules une action très variée, suivant la manière dont on l'emploie. De l'alcool au tiers, mis au bord d'une lamelle qui recouvre une goutte de sang, modifie d'abord les globules de la même façon que l'eau; mais, tandis que par l'action de l'eau pure les globules deviennent des vésicules tout à fait transparentes et finissent par disparaître complètement, par l'action de l'alcool étendu, ils se transforment en vésicules à double contour très net.

L'alcool à 90°, ajouté à du sang déjà recouvert de la lamelle de verre, fixe d'abord les globules rouges dans une forme peu différente de leur forme ordinaire. Les globules qui étaient déjà disposés en piles demeurent dans cet état; ceux qui sont isolés deviennent pour la plupart crénelés ou se garnissent de piquants à leur surface; sur d'autres points de la préparation, il s'en présente de sphériques avec le double contour que nous venons d'indiquer. Ces différences d'action sur les divers globules s'expliquent facilement et tiennent à la manière dont se répand le réactif dans la préparation. Au bord de la lamelle où l'on dépose la goutte d'alcool, c'est l'action de l'alcool pur que l'on observe; un peu plus loin vers le centre de la préparation, l'alcool arrive aux globules mélangé avec une certaine quantité de sérum et affaibli par conséquent; plus loin encore, il produit les effets de l'alcool étendu d'eau.

L'alcool absolu employé en très petite quantité a une action analogue à celle de l'acool étendu d'eau, parce qu'il se dilue dans le sérum. Mais quand, sur une goutte de sang déposée sur une lame de verre, on verse de l'alcool absolu, les globules sont fixés dans leur forme et possèdent encore la réfringence et la coloration spéciale qui appartiennent à l'hémoglobine.

L'éther, même en très petite quantité, rend tous les globules sphériques et incolores, tandis que le liquide intermédiaire est coloré par l'hémoglobine dissoute.

L'urée, qui a été expérimentée par Kölliker[1], à la dose de 25 à 50 pour 100 sur le sang défibriné, ramène aussi les globules à la forme sphérique, mais ne les décolore pas. Sur leurs bords ou sur la surface, il se produit de petites gouttes de matière semblable à celle qui les constitue, et reliées entre elles et avec le corps du globule par de minces filaments.

L'action de la bile sur les globules sanguins a été observée par Kühne[2]. Elle est extrêmement curieuse : les globules pâlissent d'abord, puis tout à coup ils disparaissent sans laisser aucune trace.

1. *Kölliker*, Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie, t. VII, p. 184 et 253.
2. *Kühne*, ibid., t. IX, p. 261.

La dessiccation produit sur les globules rouges des effets différents, suivant qu'elle est lente ou rapide. Lorsqu'elle est lente, comme par exemple lorsqu'une goutte de sang est exposée à l'air sur la lame pendant quelques minutes avant d'être recouverte de la lamelle, beaucoup de globules présentent l'aspect mûriforme. Si, au contraire, la dessiccation se fait brusquement, la forme des globules est parfaitement conservée, comme Welcker[1] l'a fort bien indiqué.

Voici comment il faut procéder pour s'en assurer. Une lame de verre est chauffée à la flamme d'un bec de gaz ou d'une lampe à alcool jusqu'à environ 60° ou 70°. C'est une température qui peut facilement s'apprécier à la main. Une goutte de sang y est déposée et étendue immédiatement en lame mince avec une aiguille tenue horizontalement et que l'on fait glisser sur la lame de verre. La dessiccation est immédiate. La préparation, recouverte d'une lamelle et portée sous le microscope, présente des globules ayant la forme de disques réguliers ou légèrement sinueux et présentant la dépression centrale caractéristique. Ils ont si bien conservé leurs dimensions que Welcker a pu s'en servir sans crainte d'erreur pour des mensurations.

Parmi les réactifs qui fixent les globules rouges dans leur forme, il convient de citer d'abord l'acide osmique. Une goutte de sang est étalée sur une lame verre. On l'expose ensuite à l'acide osmique en vapeurs (voy. pour la manière de procéder p. 76). Les globules rouges y sont si bien fixés qu'on peut ensuite ajouter de l'eau sans qu'ils se gonflent et sans qu'ils abandonnent leur hémoglobine.

L'acide picrique est aussi un bon fixateur des globules rouges; mais il est un peu inférieur à l'acide osmique. Il convient surtout lorsqu'on se propose de les teindre par l'éosine (voy. p. 89). Une goutte de sang étant déposée sur une lame de verre, on laisse tomber à sa surface deux ou trois gouttes d'une solution saturée d'acide picrique. L'albumine est coagulée, elle emprisonne un grand nombre de globules rouges qu'elle colle sur la lame de verre, de telle sorte qu'on peut ensuite laver à l'eau sans les chasser. Après ce lavage, on ajoute la solution d'éosine, on lave, on recouvre d'une lamelle et l'on ajoute de la glycérine pour rendre la préparation persistante. Dans ces préparations, les globules ont leur forme discoïde et sont colorés en beau rouge.

La chaleur modifie les globules de diverses façons. L'étude méthodique de son action a été faite par M. Schultze[2].

Pour apprécier cette action, nous nous servons d'un procédé facile, différent de celui de M. Schultze, mais qui conduit au même résultat. Un barreau d'étain chauffé à une extrémité jusqu'à ce qu'il commence à fondre (230° C.) est appliqué par cette extrémité, pendant quelques secondes, à la partie inférieure d'une lame de verre sur laquelle le sang a été déposé et monté en préparation. Il se produit dans le sang, au-dessus du point touché, un petit cercle transparent et incolore. En examinant au microscope, on constate

1. *Welcker*, Zeitschrift für ration. Med., t. XX, p. 261.
2. *Schultze*, Archiv für microsk. Anatomie, t. I, p. 1.

que dans le centre de ce cercle il y a de l'albumine coagulée et des débris de globules; on ne peut y distinguer rien de net.

Un peu plus loin, se trouvent des globules sanguins devenus incolores et sphériques; plus loin encore, les globules sont colorés, sphériques et donnent naissance à de petites boules réunies entre elles par des filaments; les boules et les filaments sont constitués par une matière semblable à celle du globule.

A côté des globules qui ont la forme sphérique, il s'en rencontre qui paraissent avoir un trou central. Dujardin [1], qui en avait observé d'analogues à l'aide d'autres méthodes, les considérait comme réellement perforés et les a figurés comme tels dans son atlas. En réalité, ce sont des globules en forme de calotte vus de face; la dépression centrale normale a été exagérée et le globule a pris la forme d'une cupule; en faisant rouler les globules dans la préparation, il est facile de se convaincre qu'il en est ainsi (fig. 55, *g*).

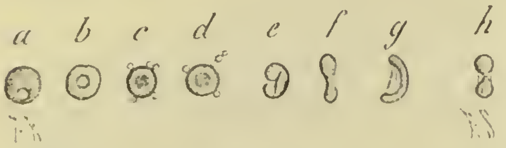


Fig. 55. — Globules rouges du sang de l'homme contenus dans une préparation qui a été chauffée avec la barre d'étain. — *a*, *b*, devenus sphériques et présentant une ouverture; *c*, *d*, avec des boules; *e* et *g*, en forme de calotte et vus de profil; *f* et *h*, en forme d'haltères.

D'autres globules, au lieu d'une seule ouverture, présentent à leur centre deux, trois ou quatre pertuis, ou bien une ouverture déchirée irrégulière. On reconnaît, par les différents aspects que présentent ces globules quand on les fait changer de position, que cette apparence appartient à des globules en forme de calotte, dont les bords sont revenus sur eux-mêmes et se sont soudés par places. Enfin certains globules vus de profil présentent la forme d'haltères, c'est-à-dire de deux boules réunies par une tige.

En dehors de cette zone, les globules sont normaux.

Après avoir acquis ces notions par une première expérience simple et facile, il convient de faire l'étude méthodique de l'action de la chaleur sur les globules rouges du sang. Cette étude, dont M. Schultze a donné l'exemple, se fait à l'aide de la platine chauffante (voy. p. 56). Une préparation de sang bordée avec de la paraffine est introduite dans la platine, et sa température élevée graduellement. Vers 56° ou 57° (M. Schultze indique 54°), les globules perdent la forme discoïde et deviennent sphériques; les piles qu'ils formaient se désagrègent, et ils se trouvent disposés les uns à côté des autres comme de petites billes. C'est à cette même température, 57°, que nous avons vu se produire les boules dont nous avons déjà parlé et qui sont reliées par des filaments au corps du globule [2]; la substance de

1. *Dujardin*, l'Observateur au microscope. Manuel Roret, Atlas, pl. III, fig. 5, *c*, *f*, *g*, *h*.

2. Ces petites boules qui se forment sous l'influence de la chaleur sont-elles des parties du globule, ou sont-elles formées simplement par l'hémoglobine, sans que le stroma albuminoïde du globule y participe ? La forme sphérique de ces boules ne prouve point que le stroma n'ait pas une part à leur formation. En effet, si dans une préparation ordinaire de sang on casse des globules en agitant la lamelle, leurs fragments prennent la forme sphérique. D'autre part, les cristaux de l'hémoglobine du chien et du cochon d'Inde, chauffés à 56°, perdent bien leur forme régulière en se fondant peu à peu, mais ils ne donnent pas

ce dernier semble se fondre et avoir la consistance de l'huile. Si la température continue à s'élever et arrive à atteindre 70°, les globules et les boules se décolorent et se transforment en petites sphères transparentes d'un volume très inégal.

Le froid a pour effet, comme Rollett[1] l'a montré, d'amener la dissolution de l'hémoglobine; son action est analogue à celle de l'eau. Si l'on fait geler une préparation de sang bordée à la paraffine en la mettant pendant quelques minutes dans une glacière artificielle, et qu'on la laisse ensuite dégeler, le liquide de la préparation se trouve coloré en jaune, tandis que la plupart des globules sont sphériques et décolorés. Si l'on fait geler et dégeler plusieurs fois de suite la même préparation, tous les globules finissent par être sphériques et décolorés.

Lorsqu'on fait passer à travers une mince couche de sang disposée sur le porte-objet spécial (p. 39) une série d'étincelles d'une bouteilles de Leyde, ou un courant d'induction interrompu, l'hémoglobine se dissout dans le plasma et les globules deviennent incolores[2].

Globules elliptiques. — Lorsqu'il s'agit simplement d'étudier les globules rouges du sang de la grenouille, il n'est pas nécessaire d'avoir du sang absolument pur et dépourvu de lymphe; mais il n'est pas indispensable par conséquent de le prendre, comme nous avons dit (p. 152), en faisant la section du cœur. On s'en procure plus simplement en coupant l'extrémité d'un des doigts de la patte de grenouille, et en comprimant cette patte, de manière à faire suinter à l'extrémité du doigt coupé une goutte de liquide; cette goutte, recueillie immédiatement sur la lame et montée en préparation, n'est pas formée de sang pur; elle est toujours plus ou moins mélangée de lymphe, mais elle peut servir à l'étude des globules.

De quelque manière que le sang ait été recueilli, les globules rouges se montrent pour la plupart avec la forme elliptique. Ils sont colorés en jaune pâle, et présentent à leur milieu une zone ovalaire légèrement granuleuse, plus claire que le reste, et dont la teinte s'obscurcit peu à peu sur les bords, de façon que la limite de cette zone n'apparaît pas nettement (fig. 56). Tous les globules n'ont pas cet aspect; il y en a un certain nombre qui ont une teinte jaune beaucoup plus foncée, sont plus étroits et fusiformes, comme des bâtonnets pointus à leurs extrémités. Lorsque les globules nagent dans la préparation ou lorsqu'on les y fait mouvoir, soit en pesant un peu sur la lamelle, soit en approchant simplement la main, il est facile, en suivant des yeux un globule qui se meut, de se convaincre qu'il paraît tantôt fusiforme, tantôt elliptique, et l'on conclut de l'ensemble de ces deux aspects que sa forme réelle est celle d'un ovoïde aplati[3]. Ces

naissance à des boules. Il résulte de ces expériences que l'hémoglobine à elle seule ne peut pas produire des boules, et que les boules que l'on obtient des globules rouges du sang sous l'influence de la chaleur sont formées, non seulement aux dépens de l'hémoglobine, mais encore aux dépens du stroma.

1. *Rollett*, Stricker's Handbuch, p. 284.

2. *Rollett*, *ibid.*, p. 281.

3. Outre les globules elliptiques, on observe encore dans le sang de la grenouille des

globules nagent dans le liquide sans se mettre en piles à la façon des globules discoïdes. Plus tard ils présentent, quand le sang n'a pas été défibriné, un groupement spécial, sur lequel nous reviendrons à propos de la formation de la fibrine. Parmi les globules rouges de la grenouille, étudiés dans une préparation fraîche, il s'en présente presque toujours quelques-uns qui, au milieu de leur masse, possèdent des vacuoles sphériques, claires (voy. fig. 56, *v*). Ces vacuoles sont remplies d'une substance dont l'indice de réfraction est inférieur à celui du globule, ce que l'on reconnaît à ce qu'elles deviennent obscures quand on éloigne l'objectif. Une préparation de sang bien fermée, abandonnée à elle-même pendant vingt-quatre heures, montre un bien plus grand nombre de globules rouges munis de vacuoles et dans chacun de ceux-ci ces vacuoles sont plus grandes et plus nombreuses.

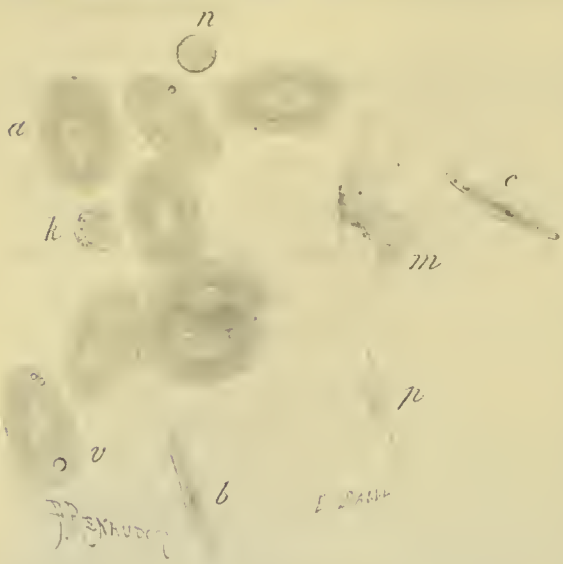


Fig. 56. — Sang de grenouille. — *a*, globule rouge vu de face; *b*, vu de profil; *c*, vu de trois quarts; *v*, vacuole; *n*, cellule lymphatique en repos; *m*, cellule lymphatique présentant des prolongements amiboïdes; *k*, cellule lymphatique morte; *p*, cellule fusiforme incolore.

Si l'on traite des globules rouges contenant des vacuoles par les vapeurs d'acide perruthénique, ils deviennent noirs, tandis que leurs vacuoles restent claires. De cette expérience, on peut conclure que les vacuoles contiennent de l'eau pure ou de l'eau et des sels inorganiques, car toute matière organique réduit l'acide perruthénique en se colorant en noir.

Si, à une goutte de sang de grenouille mise sur une lame de verre on ajoute une goutte d'eau, et qu'après l'avoir recouverte d'une lamelle on la soumette à l'observation microscopique, on remarque que les globules se déforment. Ils se gonflent et leur bord grossit; ensuite ils pâlissent peu à peu, tandis que le liquide qui les entoure se colore; et enfin, au bout de quelques minutes, ils apparaissent dans un liquide coloré comme des cellules arrondies, incolores, contenant un noyau réfringent homogène, à bords très nets.

Lorsque l'on met une goutte d'eau sur le bord de la lamelle et que celle-ci pénètre peu à peu dans la masse du sang, quelques globules présentent une forme particulière qui peut se rencontrer du reste dans d'autres conditions et que nous avons représentée fig. 57. Entre le noyau et la périphérie du globule s'étendent des stries rayonnées considérées par certains auteurs, Kneut-

cellules fusiformes avec des prolongements effilés; il y en a aussi qui ont une extrémité mousse et l'autre pointue. Ces cellules sont incolores et granuleuses. D'après Recklinghausen, elles représenteraient des formes de transition entre les globules blancs et les globules rouges.

tinger[1] entre autres, comme des filaments qui relieraient le noyau à la membrane du globule. Ces filaments, appelés par ces auteurs prolongements protoplasmiques, détermineraient la forme spéciale des globules. En réalité, ce que Kneuttinger et d'autres auteurs ont pris pour des prolongements n'est autre chose que des plis de la surface du globule.

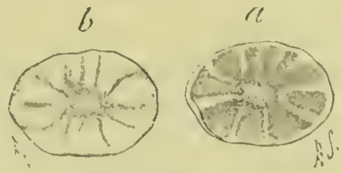


Fig. 57. — Un globule rouge de grenouille vu au commencement de l'action de l'eau. — *a*, en éloignant l'objectif; *b*, en le rapprochant.

La matière qui le constitue, s'affaissant ou se gonflant sous l'influence du réactif, tandis que le noyau conserve son volume, se dispose en plis comme le ferait un voile souple recouvrant un corps convexe. Ce qui prouve que ces stries correspondent à des plis, c'est qu'elles sont obscures quand on éloigne l'objectif, brillantes quand on le rapproche; elles se comportent par conséquent comme des corps convexes réfringents (voy. p. 17), tandis que les espaces intermédiaires alternent d'éclat en sens inverse et se comportent comme des corps concaves.

Une goutte de sang mélangée à une goutte d'alcool au tiers et étudiée le plus rapidement possible montre d'abord les globules colorés. Bientôt ceux-ci se gonflent, leurs bords deviennent fortement convexes, tandis qu'au centre la masse reste adhérente au noyau. A cet état, les globules rouges de la grenouille ressemblent aux globules discoïdes des mammifères, en ce sens qu'ils présentent une dépression centrale, mais ils en diffèrent par leur contour elliptique et leurs noyaux. Au bout d'une demi-minute environ, l'alcool poursuivant son action, l'hémoglobine se dissout dans le plasma et les globules deviennent incolores. Ils sont alors limités par un double contour très net. Autour du noyau se montrent des granulations incolores, très variables de nombre, de forme et de dimension. Le noyau paraît homogène, si l'action de l'alcool n'a pas été trop forte, ou si elle n'a pas été trop prolongée; autrement il devient granuleux. Pour bien distinguer le fait sur lequel l'attention doit être portée, il est indispensable que le noyau soit homogène, alors que l'hémoglobine s'est dissoute dans le plasma. Ce noyau homogène est plus ou moins gonflé par l'action du réactif, et dans son intérieur se montre, soit au centre, soit un peu plus rapproché de son bord, un nucléole sphérique très petit et plus réfringent que le milieu dans lequel il est plongé, car il devient brillant lorsqu'on éloigne l'objectif. Quelquefois, mais rarement, il y a deux nucléoles dans le même noyau. Le sang de l'axolotl, soumis à la même réaction, laisse voir, dans l'intérieur des noyaux des globules rouges, des nucléoles un peu plus volumineux.

Si, après l'action de l'alcool dilué, on colore avec le sulfate de rosaniline, le noyau et les granulations qui l'entourent prennent une couleur rouge vif; la membrane périphérique, limitée par un double contour, est également co-

1. *Kneuttinger*, Zur Histologie des Blutes, Würtzburg, 1865, p. 21. Cet auteur indique comme le meilleur procédé, pour voir ces figures, d'ajouter à du sang frais non défibriné quatre fois son volume d'eau. Ces formes se trouvent aussi quelquefois dans des préparations auxquelles on n'a ajouté aucun liquide.

lorée en rouge, tandis que le reste de la substance globulaire est à peine coloré.

De l'application de l'alcool à l'étude des globules rouges du sang des batraciens, il résulte deux faits importants : à la surface du globule se trouve une couche régulière et nettement limitée, qui résiste à l'action du réactif et se colore par le rouge d'aniline. Cette couche peut être considérée comme une sorte de membrane cellulaire. En second lieu, les noyaux des globules rouges, présentant des nucléoles, sont de véritables noyaux de cellules.

L'acide picrique et le picrocarminate employés de la façon suivante peuvent donner des préparations persistantes de globules rouges. Sur une goutte de sang mise sur la lame de verre, on laisse tomber deux ou trois gouttes d'une solution saturée d'acide picrique; sous l'influence de ce réactif, la goutte de sang est fixée par la coagulation de l'albumine; la lame est alors inclinée pour faire écouler l'acide picrique, et sur le sang coagulé est déposé une goutte de picrocarminate. La préparation est recouverte d'une lamelle au bord de laquelle on place une goutte de glycérine, puis elle est abandonnée à plat. A mesure que l'eau s'évapore, la glycérine pénètre. Au bout de vingt-quatre heures, les noyaux sont tous colorés en rouge; la plupart sont homogènes, quelques-uns sont granuleux; leur bord est net; le corps des globules, qui a conservé sa forme, est rempli de granulations et coloré en jaune pâle.

Ces préparations sont persistantes; il suffit de les border à la paraffine pour les conserver.

Lorsque les globules rouges nucléés ont été fixés par l'acide picrique, si, avant de les colorer par l'éosine, on les soumet à l'action de l'hématoxyline nouvelle, leurs noyaux sont colorés en violet et la substance globulaire proprement dite en rose. La coloration double par l'hématoxyline et l'éosine a été employée pour la première fois dans l'étude des globules nucléés des embryons de mammifères par Wissozky[1].

Les globules rouges nucléés peuvent être fixés au moyen de l'acide osmique exactement comme les globules discoïdes des mammifères.

La solution iodée (voy. p. 94) colore les globules rouges en jaune, tout en conservant leur forme. Le noyau apparaît avec un bord très net et comme granuleux.

La bile produit les mêmes effets sur les globules elliptiques que sur les globules discoïdes. A une préparation de sang de grenouille, ajoutons une goutte de bile de chien. Les globules pâlissent et prennent la forme sphérique, puis, subitement, ils disparaissent, et leurs noyaux flottent librement dans le liquide.

La dessiccation brusque, produite comme nous l'avons décrit pour les globules discoïdes en étendant sur une lame de verre chauffée à 60° ou 70° une goutte de sang suspendue à une aiguille, conserve intacte la forme des glo-

1. N. *Wissozky*. Ueber das Eosin als Reagens auf Haemoglobin und die Bildung von Blutgefaessen und Blutkoerperchen bei Saeugethier-und Huehnerembryonen. (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. XIII, 1877, p. 479.)

bules. Leurs noyaux apparaissent très nettement en clair sur le fond jaune. La dessiccation lente détermine le plissement des globules. Lorsqu'elle est complète, ils se fendillent suivant la direction de lignes qui vont du noyau à la périphérie.

Nous n'insisterons pas sur les effets de la chaleur sur les globules elliptiques; ils sont en tous points analogues à ceux que nous avons décrits pour les globules discoïdes et peuvent être étudiés à l'aide des mêmes méthodes. Il en est de même pour l'action de la congélation et pour celle des décharges d'induction.

Hémoglobine. — Après avoir étudié la forme des globules rouges et les altérations diverses qu'elle peut subir, il nous reste à dire quelques mots de leur matière colorante, l'hémoglobine.

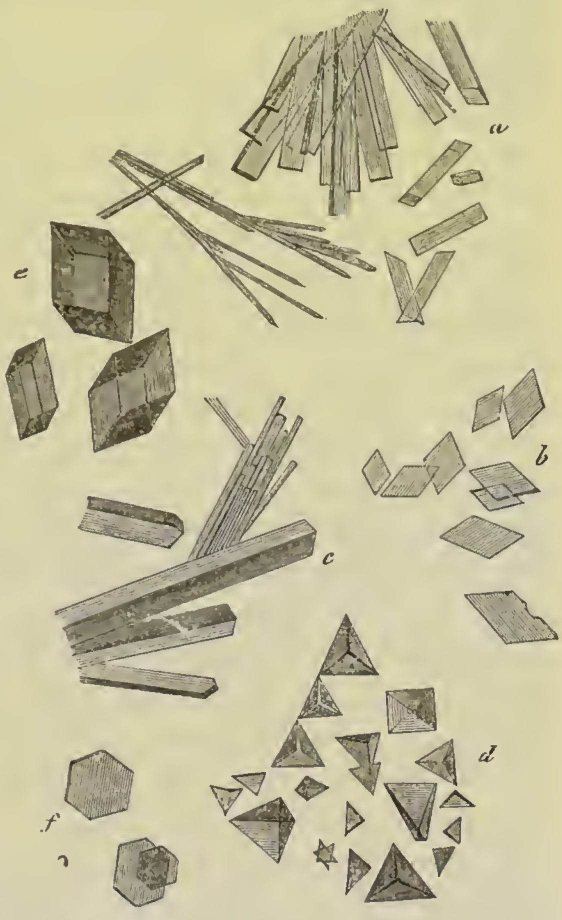


Fig. 58. — Cristaux d'hémoglobine. — *a* et *b*, de l'homme; *c*, du chat; *d*, du cochon d'Inde; *e*, du hamster; *f*, de l'écureuil.

Nous avons vu, en observant l'action des différents réactifs sur les globules rouges, qu'un certain nombre d'entre eux les décolorent, et que le liquide dans lequel ils nagent prend alors une coloration jaune, et nous avons ajouté que cela tient à ce que leur matière colorante se dissout. Lorsque l'on fait agir les mêmes réactifs, c'est-à-dire l'eau, l'alcool, l'éther, le chloroforme, etc., sur de plus grandes quantités de sang défibriné, celui-ci perd son opacité et prend la transparence d'un sirop.

Pour se procurer de l'hémoglobine, il suffit de mettre au fond d'un flacon du sang défibriné, du sang de chien par exemple, d'y ajouter goutte à goutte de l'éther et d'agiter jusqu'à ce que le liquide soit devenu transparent. L'hémoglobine est alors dissoute dans le sérum. Le liquide abandonné à lui-même pendant quelques heures se prend en masse. On y observe alors, au microscope, un très grand nombre de cristaux rhomboïdaux allongés, enchevêtrés et dont la couleur est nettement rouge.

Les cristaux d'hémoglobine n'ont pas la même forme et n'appartiennent même pas à un seul type cristallin chez tous les animaux. Ils varient suivant les espèces. Ainsi, chez l'écureuil, ils appartiennent au type hexagonal; chez le cochon d'Inde ils présentent la forme de tétraèdres : ces tétraèdres, réguliers quand ils sont petits, présentent, quand ils ont acquis une certaine

dimension, des troncatures sur leurs angles solides. Pour obtenir des préparations permanentes de ces cristaux, il faut dessécher brusquement l'hémoglobine cristallisée en l'étendant sur une lame de verre chauffée, comme nous l'avons indiqué pour le sang; ou bien la traiter par l'alcool absolu, puis par l'essence de térébenthine et conserver la préparation dans le baume du Canada.

L'hémoglobine est une substance définie, puisqu'elle cristallise. On devait se demander si la matière colorante des globules rouges du sang est bien l'hémoglobine que l'on obtient cristallisée et si elle n'en est pas seulement un dérivé. C'est là le problème que Hoppe Seyler[1] a résolu à l'aide de la spectroscopie du sang, et même ce n'est que depuis l'époque où la spectroscopie a été appliquée à l'étude du sang que la nature et la constitution de l'hémoglobine que l'on appelait hématocristalline ont été connues.

La spectroscopie du sang repose sur la propriété que possèdent les corps colorés d'absorber certaines des irradiations colorées de la lumière blanche. Un corps rouge, par exemple, absorbe tous les rayons colorés, sauf les rouges, et c'est précisément pour cela qu'il nous paraît rouge. Si donc un faisceau de lumière décomposé par le prisme traverse un corps rouge et transparent pour aller se peindre sur un écran, le spectre ne sera formé que par une seule bande rouge. Les rayons violets, indigo, bleus, verts, jaunes et orangés seront complètement arrêtés; et ils reparaîtront dans le spectre à leurs places respectives, dès qu'on aura écarté le corps rouge. Mais le plus souvent les corps ne présentent pas une coloration simple, c'est-à-dire que plusieurs des couleurs primitives du spectre entrent dans cette coloration. Lors donc qu'un corps transparent et d'une coloration complexe est traversé par le faisceau lumineux décomposé d'un spectre, il arrête quelques-unes seulement des irradiations, et sur le spectre formé sur un écran, ou bien examiné avec une lunette, on observe des bandes obscures, non colorées, dans des positions parfaitement déterminées. Ces bandes obscures portent le nom de bandes d'absorption. La spectroscopie, appliquée aux corps colorés, n'est donc qu'un moyen rigoureux d'analyse de leur coloration; comme cette coloration est en rapport avec la constitution de ces corps, et qu'elle change quand on modifie cette constitution, il devient possible par l'examen spectroscopique de reconnaître la présence d'une matière colorée, et d'en déterminer d'une manière précise certaines modifications chimiques. C'est ce qui a permis de pousser aussi loin l'étude de l'hémoglobine et de ses dérivés.

Spectroscopie du sang. — Les instruments dont on se sert pour la spectroscopie du sang sont le spectroscope ordinaire et le microspectroscope.

Lorsqu'on se sert du spectroscope ordinaire, voici comment on procède. Dans un tube à analyse d'un centimètre de diamètre environ, à peu près rempli d'eau, on ajoute du sang goutte à goutte jusqu'à ce que le liquide ait pris une couleur rose. Le tube est alors fixé entre la fente verticale du spectroscope et la flamme d'une bonne lampe, de manière que les rayons

1. *Hoppe Seyler*, Handbuch der chemisch. Analyse, 1870.

lumineux après avoir traversé le liquide coloré arrivent sur la fente de l'instrument. Si la solution de sang a une teinte convenable, l'observateur, en regardant par l'oculaire, voit, après avoir mis l'instrument au point, les bandes d'absorption de l'hémoglobine oxygénée.

Le microspectroscope est un appareil qui s'adapte à un microscope ordinaire; il constitue une pièce qui se met à la place de l'oculaire. Il consiste essentiellement en un oculaire faible formé, comme tout oculaire, de deux lentilles. Au point de la lentille supérieure ou oculaire proprement dit se trouve un diaphragme en forme de fente, dont les deux lèvres peuvent s'écarter ou se rapprocher de telle façon qu'elles restent toujours l'une et l'autre à égale distance d'une ligne qui leur est parallèle, et qui passe par l'axe optique de l'instrument. Le mécanisme qui fait varier les dimensions de la fente est mis en jeu par un bouton que l'observateur peut faire fonctionner à son gré. Au-dessus de la lentille oculaire est placé un prisme à grand pouvoir dispersif et à vision directe (prisme d'Amici). Ce sont là les parties essentielles de tout oculaire spectroscopique; il y a quelquefois dans ces appareils des détails de construction d'un usage spécial que nous ne décrirons pas ici, parce qu'ils ne sont pas très importants. Revenons à l'appareil simple tel que nous l'avons indiqué. Le microscope est muni d'un objectif faible; le miroir concave est disposé de manière à éclairer vivement le centre de la platine; l'oculaire spectroscopique est mis à la place de l'oculaire ordinaire et orienté de manière que la fente soit antéro-postérieure.

En regardant dans l'oculaire, on aperçoit le spectre avec ses différentes couleurs, en partant de la droite violet, indigo, bleu, vert, jaune, orangé, rouge. On dispose alors la fente de manière que les différentes couleurs soient bien tranchées, et généralement, lorsque l'observation est faite avec la lumière du jour, les lignes de Fraunhofer sont distinctes. Si, au contraire, l'observation est faite avec une lumière artificielle, le spectre est continu, ce qui tient, comme on le sait, à ce que les lignes de Fraunhofer sont produites par les corps simples qui se trouvent dans l'atmosphère du soleil.

L'appareil étant ainsi disposé, pour observer les bandes de l'hémoglobine oxygénée, il suffit de placer sur la platine du microscope une goutte de sang dans un verre de montre, sur une lame de verre, ou bien une préparation de sang un peu épaisse, ou encore une partie transparente et vasculaire d'un animal vivant, la membrane interdigitale ou la langue d'une grenouille, par exemple. Mais, lorsqu'on veut faire subir au sang une série de réactions qui sont nécessaires pour en faire une analyse spectroscopique complète, on prend un petit tube de verre fermé à un bout, ayant 6 ou 7 millimètres de diamètre et une longueur de 4 à 5 centimètres. Un mélange d'eau et de sang est placé dans le tube qui est fermé au moyen d'un petit bouchon de liège ou d'un tampon de cire à modeler. (Ce dernier procédé doit être préféré, parce qu'il permet de fixer en même temps le petit tube sur la platine du microscope.)

Pour déterminer exactement la situation d'une bande d'absorption, les grands spectroscopes sont munis d'un micromètre. Lorsque l'on se sert du

microspectroscope, il est très facile, en employant la chambre claire, de définir exactement la position d'une bande d'absorption pour la comparer à celle qui sera produite par une seconde solution qui remplacera la première. La chambre claire étant fixée au-dessus de l'oculaire muni du prisme, l'image du spectre est produite à côté du pied du microscope. On peut alors dessiner sur une feuille de papier les bandes telles qu'on les observe ou rapporter leurs positions à une règle divisée. Par ce moyen très simple, à la disposition de tous les histologistes, puisque les microscopes sont ordinairement pourvus de chambres claires, on peut donner une grande rigueur aux observations faites avec le microspectroscope.

Quand nous parlerons des muscles, nous indiquerons un moyen simple de construire avec du tissu musculaire un spectroscope, inférieur à ceux dont il vient d'être question, mais suffisant pour faire l'analyse spectrale du sang.

Les bandes d'absorption de l'hémoglobine oxygénée sont au nombre de deux, situées entre les lignes D et E de Fraunhofer, dans le jaune et le vert. La première bande commence à droite de la ligne D (ligne du sodium); la seconde, plus large, se termine en deçà de la ligne E. L'espace clair compris entre les deux bandes obscures est à peu près égal à la deuxième bande d'absorption. (Voyez la planche à la fin du volume.)

Ce spectre, décrit par Hoppe Seyler, est celui de l'hémoglobine dite oxygénée. On peut le produire avec une solution de cristaux d'hémoglobine dans l'eau; il ne diffère pas de celui que fournit le sang étendu, et l'on conclut de là qu'il n'y a pas dans le sang normal d'autre matière colorante que l'hémoglobine. Si au lieu d'hémoglobine convenablement étendue, on met dans le tube à analyse des solutions fortement colorées, toute la portion du spectre qui est au delà du rouge est complètement absorbée.

Enfin, si l'on place devant la fente du spectroscope du sang pur défibriné, sous une couche d'un centimètre, il ne passe aucun rayon lumineux; mais si le sang est en couche mince, si par exemple il est étalé sur une lame de verre, comme pour l'examen microscopique, on distingue d'une manière nette le spectre de l'hémoglobine oxygénée. Une partie vasculaire suffisamment mince d'un animal vivant, la membrane interdigitale ou la langue d'une grenouille, par exemple, étendue sur la platine du microspectroscope, donne le spectre de l'hémoglobine traversé par des raies vacillantes dues à la circulation.

En ajoutant à une solution convenable de sang ou d'hémoglobine oxygénée des corps avides d'oxygène, comme du fer réduit par l'hydrogène, récemment préparé, du tartrate d'oxyde d'étain, du sulfate de protoxyde de fer, du sulfhydrate d'ammoniaque, des fragments de muscles, etc., on obtient un spectre un peu différent : il présente une seule bande d'absorption qui est aussi large que les deux bandes réunies de l'hémoglobine oxygénée, et qui commence un peu à gauche de la ligne D. C'est le spectre de l'hémoglobine réduite; il a été découvert par Stokes, en 1864. Ce qui prouve que c'est en effet l'hémoglobine réduite qui présente cette bande d'absorption, c'est qu'en agitant au contact de l'air la solution qui l'a manifestée, et en la met-

tant ensuite devant le spectroscope, on fait apparaître de nouveau les deux bandes d'absorption de l'hémoglobine oxygénée. Elles s'effacent bientôt s'il y a dans le liquide un excès de l'agent réducteur.

Le sang abandonné à lui-même, à l'abri du contact de l'air, subit bientôt des modifications telles que l'oxygène de l'hémoglobine entre dans de nouvelles combinaisons, et l'hémoglobine qui reste en est privée. Si par exemple on fait une préparation épaisse de sang de grenouille, mise à l'abri de l'évaporation par une bordure de pararaffine, au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures (cela dépend de la température), cette préparation, qui donnait au microspectroscope les raies de l'hémoglobine oxygénée, donne la bande unique de l'hémoglobine réduite. Pour faire apparaître de nouveau les deux bandes d'absorption de l'hémoglobine oxygénée, il suffit d'enlever la paraffine et de soulever la lamelle plusieurs fois, de manière à mélanger le sang avec de l'air.

En agitant du sang défibriné avec de l'oxyde de carbone, et en examinant ensuite ce sang mis en solution convenablement étendue dans un tube à analyse devant la fente du spectroscope, il donne un spectre analogue à celui de l'hémoglobine oxygénée. Il possède deux bandes d'absorption, dont la première à gauche est plus étroite; ces deux bandes sont comprises entre les raies D et E; mais la première est plus éloignée de la ligne D que la première bande d'absorption de l'hémoglobine oxygénée, et la seconde est plus voisine de la ligne E. En un mot, les deux bandes d'absorption de cette hémoglobine oxycarbonée sont portées un peu à droite par rapport à celles de l'hémoglobine oxygénée. Ce spectre de l'hémoglobine oxycarbonée est aussi obtenu avec le sang des animaux empoisonnés par l'oxyde de carbone, et il est dû à la combinaison de l'hémoglobine avec ce gaz. Hoppe Seyler a démontré, du reste, que c'est l'hémoglobine seule qui, dans cet empoisonnement, se combine avec le gaz toxique; c'est elle qui est l'agent effectif de l'échange des gaz[1].

Le spectre de l'hémoglobine oxycarbonée n'est nullement modifié par les agents réducteurs.

Hématine. — Si l'on ajoute quelques gouttes d'acide acétique à du sang étendu ou à une solution d'hémoglobine, on voit apparaître un nouveau spectre qui présente une bande d'absorption commençant à droite de la ligne B et dépassant la ligne C. Les autres acides donnent un spectre semblable, c'est le spectre de l'*hématine acide*.

En ajoutant à une solution de sang ou d'hémoglobine de l'ammoniaque ou de potasse caustique, on obtient un spectre analogue au précédent et dans lequel la bande d'absorption se produit également à gauche de la ligne D,

1. Claude Bernard a découvert, en 1854, l'affinité du sang pour l'oxyde de carbone. Lorsque, sous une cloche reposant sur du mercure, on agite du sang artériel avec un excès d'oxyde de carbone, l'oxygène est entièrement dégagé, et l'oxyde de carbone prend sa place dans le sang. La combinaison de l'hémoglobine avec l'oxyde de carbone est plus stable que sa combinaison avec l'oxygène; elle est aussi moins soluble, ce qui fait que l'on obtient plus facilement par les mêmes procédés les cristaux de l'hémoglobine oxycarbonée que ceux de l'hémoglobine ordinaire.

tandis que les spectres précédents avaient toujours leurs bandes d'absorption à droite de cette même ligne. (La ligne D est facile à déterminer; il suffit, en effet, de placer devant la fente du spectroscope une lampe à gaz dans laquelle on met un fil de platine trempé dans une solution de chlorure de sodium; la raie brillante du sodium que l'on voit apparaître alors correspond à cette ligne.) Le spectre déterminé par l'addition d'alcalis au sang présente une bande d'absorption qui commence un peu à droite de la ligne C et qui va presque jusqu'à la ligne D. C'est le spectre de l'*hématine alcaline*. Si l'on ajoute un acide à l'hématine alcaline de manière à dépasser la neutralisation de la base, on fait apparaître le spectre de l'hématine acide. D'après Kühne, une solution d'hématine de $\frac{1}{6667}$, ayant un centimètre d'épaisseur, fournit un spectre très net de l'hématine acide ou alcaline.

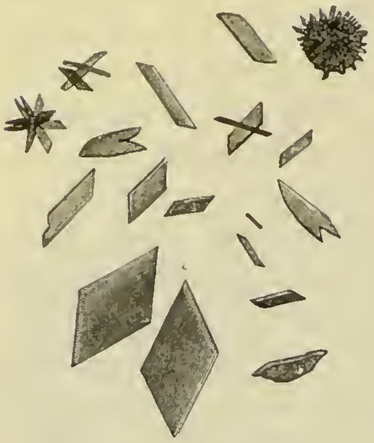


Fig. 59. — Cristaux de chlorhydrate d'hématine.

Le spectroscope démontre nettement, comme on le voit, que l'hématine n'existe pas toute formée dans le sang, puisqu'elle présente des bandes d'absorption tout à fait différentes de celles du sang normal; ses raies sont à gauche de la ligne D, tandis que celles du sang ou de l'hémoglobine sont situées à droite. On peut la produire par l'addition des acides et des alcalis. Elle ne se trouve naturellement dans l'organisme que d'une manière accidentelle, par exemple lorsque le sang s'est épanché dans les tissus ou bien lorsqu'il a séjourné dans les voies digestives. On la rencontre à l'état physiologique dans les fèces des animaux nourris avec de la viande (Hoppe Seyler). Elle se forme spontanément dans du sang abandonné dans un vase. Au bout de quelques jours, plus ou moins rapidement suivant la température, le sang prend une teinte brun sale qui indique la formation de l'hématine.

Lorsque l'on chauffe dans un tube à analyse du sang défibriné avec de l'acide acétique et une faible quantité de chlorure de sodium, il se fait, après le refroidissement, un précipité noirâtre, qui, examiné au microscope, se montre formé par des cristaux rhomboïdaux bruns de chlorhydrate d'hématine; c'est ce chlorhydrate d'hématine que Teichmann a découvert sans le définir et qu'il a appelé *hémine*[1]. Ces cristaux sont insolubles dans l'eau; ils se dissolvent dans l'ammoniaque en donnant de l'hématine et du chlorhydrate d'ammoniaque.

Les solutions alcalines d'hématine, obtenues en ajoutant des alcalis à du sang défibriné ou à une solution d'hémoglobine, sont brunes à la lumière directe et verdâtres par transparence. Elles sont donc dichroïques. Les solu-

1. Autrefois les cristaux d'hémine avaient une très grande importance au point de vue de la médecine légale. Ils pouvaient servir à déterminer qu'une tache était produite par du sang. Aujourd'hui que l'on a à sa disposition la spectroscopie, on a complètement abandonné la recherche du sang par les cristaux de chlorhydrate d'hématine; pour déterminer si une tache a été faite par du sang, on le détrempe dans l'eau, et le liquide coloré est examiné au moyen du microspectroscope.

tions acides, au contraire, sont monochromatiques; elles paraissent brunes, aussi bien par transparence qu'à la lumière directe.

Nombre des globules rouges. — Le nombre des globules rouges contenus dans un millimètre cube de sang est très considérable; il suffit d'avoir vu une préparation d'une goutte de sang pour en être convaincu. Pour estimer approximativement ce nombre, on a essayé de divers procédés : on a cherché à l'évaluer par des moyens indirects, par exemple par la coloration plus ou moins foncée du sang; on a aussi entrepris de compter directement les globules dans une quantité donnée de sang.

Le procédé dont nous nous servons à cet effet et qui nous paraît donner les meilleurs résultats est celui qui consiste à faire un mélange bien titré et bien homogène de sang et d'un sérum artificiel n'altérant pas les globules rouges et à compter ceux qui sont contenus dans un volume donné de ce mélange. On a imaginé un grand nombre de sérums artificiel; un des meilleurs est ainsi composé :

Solution de gomme arabique donnant au pèse-urine une densité de 1,020.	1 vol.
Solution de sulfate de soude et de chlorure de sodium en parties égales, donnant également une densité de 1,020	5 —

Mais on peut se contenter d'une simple solution de sulfate de soude à 5 pour 100, le sel étant pesé non efflorescent. Cette solution marque 1,020 au pèse-urine.

Ce sérum, mélangé au sang, n'altère pas beaucoup les globules; en tout cas, il les maintient dans une forme nette pendant un temps suffisamment long pour que l'on puisse aisément les compter. On fait le mélange à l'aide d'une sorte de pipette connue sous le nom du mélangeur Potain.

Le mélangeur est un tube capillaire de verre présentant sur son trajet, au voisinage de l'une de ses extrémités, une dilatation ampullaire dans l'intérieur de laquelle a été placée une petite boule de verre. La longue portion de ce tube capillaire a une longueur telle que son volume intérieur se trouve être une fraction déterminée, la centième partie, par exemple, de la portion dilatée. Un trait placé de chaque côté de la dilatation indique le point où ces proportions se trouvent être exactes.

La longue portion est effilée en pointe à son extrémité libre; la courte, dont la lumière est un peu plus large, est également effilée, de manière que l'on puisse facilement y adapter un tube de caoutchouc, assez épais pour ne pas s'aplatir sous l'influence de l'aspiration et assez long pour aller commodément de la bouche à la main.

Pour faire un mélange au moyen de cet instrument, on en met la pointe dans une goutte de sang ou dans le vaisseau dont on veut examiner le sang, et on aspire lentement à l'extrémité du tube de caoutchouc, jusqu'à ce que le liquide arrive au niveau du trait qui sépare la longue portion de la partie ampullaire; retirant alors la pointe de l'instrument, on la plonge dans le sérum artificiel et l'on continue à aspirer jusqu'à ce que le mélange soit arrivé au niveau du trait *c* (fig. 60) qui termine la dilatation ampullaire.

On a ainsi dans le mélangeur un liquide qui contient une partie de sang pour 100 parties de sérum. On imprime alors à l'instrument un mouvement de rotation sur son axe, tout en l'inclinant de côté et d'autre, et la petite boule intérieure, agitée dans tous les sens, mélange parfaitement le sang avec le sérum artificiel.

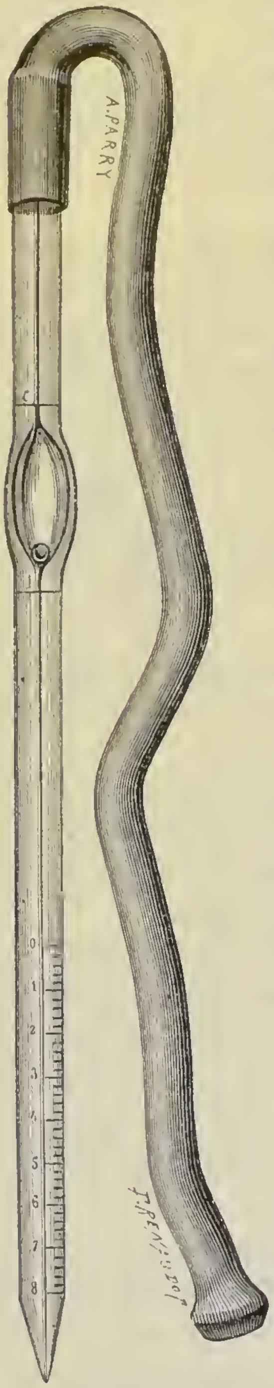


Fig. 60.
Mélangeur Potain.

La numération dans un volume donné de ce mélange peut se faire, soit dans une cellule de profondeur déterminée (Hayem et Nachet), soit dans la chambre humide graduée imaginée par M. Malassez. Ce dernier appareil nous paraissant le meilleur est le seul que nous décrirons.

Il se compose d'une lame métallique ayant les dimensions d'une lame porte-objet ordinaire; à son centre est une ouverture circulaire dans laquelle un petit disque de glace est encastré et serti à la façon d'une lentille dans un objectif. Au voisinage du disque sont percés trois trous munis d'un pas de vis; à travers chaque trou passe une vis dont la pointe, dirigée en haut, fait saillie d'une quantité déterminée au-dessus de la surface du disque. En déposant une lamelle parfaitement plane sur ces trois vis, on aura entre elle et le disque porte-objet un espace capillaire ayant exactement la hauteur nécessaire. Sur la surface du disque porte-objet sont tracés des traits circonscrivant des rectangles ayant 1 quart de millimètre de hauteur et dont la base mesure 1 cinquième de millimètre. Si la saillie des vis est de 1 cinquième de millimètre, chaque rectangle correspond à un volume de 1 centième de millimètre cube.

Ceux de ces rectangles qui sont spécialement destinés à la numération des globules rouges sont divisés en 20 petits carrés.

Pour la facilité des manœuvres, la lamelle couvre-objet est fixée à un petit cadre métallique dit compresseur qui s'abaisse à volonté sur la préparation.

Le mélange étant fait, on en dépose une goutte sur le porte-objet; on rabat aussitôt le compresseur et on porte l'appareil sur la platine du microscope. Au bout de peu de temps les globules rouges étant plus denses que le sérum tombent sur le disque porte-objet où on les voit en même temps que le réseau micrométrique formé par les rectangles et leurs subdivisions.

Pour la numération des globules rouges, on compte tous ceux qui sont compris dans un des rectangles subdivisés en petits carrés; on aura ainsi le nombre de globules rouges compris dans un centième de millimètre cube du mélange. Pour avoir le nombre de globules rouges contenus dans 1 millimètre

cube du mélange, il faudra multiplier par 100 le nombre précédemment obtenu et, si le mélange a été fait au centième, il suffira de faire une deuxième multiplication par 100 pour avoir le nombre de globules rouges compris dans un millimètre cube de sang pur. Cela revient à multiplier par 10 000 le premier nombre obtenu, en écrivant quatre zéros à sa droite. Il est bien entendu que si le mélange avait été fait au 2 centièmes ou encore si l'on s'était servi d'une chambre humide de moitié moins profonde, il faudrait doubler ce nombre. Comme la répartition des globules n'est jamais parfaite, il ne faut pas se contenter de la numération dans un seul rectangle; on doit compter les globules rouges dans plusieurs rectangles et prendre la moyenne des nombres obtenus.

Cette méthode sert aussi bien à compter les globules blancs que les globules rouges. Comme les globules blancs sont beaucoup moins nombreux que les globules rouges, il faut examiner un plus grand volume de mélange et compter les globules blancs, soit dans un mélange plus concentré, soit dans un plus grand nombre de rectangles. Comme il y a dans le réseau 100 rectangles subdivisés ou non, le volume correspondant à tout l'ensemble du réseau est égal à un millimètre cube du mélange. Si donc, on compte les globules compris dans tout le réseau, il suffira de multiplier le nombre trouvé par le titre du mélange employé.

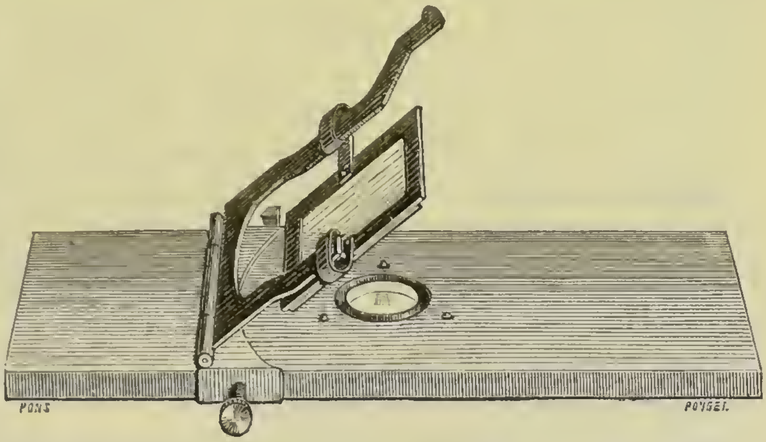


Fig. 61. — Chambre humide graduée, munie d'un compresseur porte-lamelle.

C'est par ce procédé que l'on trouve qu'il y a en moyenne, dans un millimètre cube de sang de l'homme, 5 millions de globules rouges.

Ces nombres diffèrent beaucoup, suivant les animaux; chez les mammifères, ils peuvent varier entre 5 et 18 millions.

Les oiseaux ont un nombre de globules inférieur à celui des mammifères; le chiffre le plus élevé est de 4 millions, le plus bas est de 1 million et demi. Chez les poissons, ce nombre diminue encore.

Dans la même espèce, par exemple chez l'homme, ce chiffre varie beaucoup, soit dans les conditions physiologiques, soit dans les conditions pathologiques : les chiffres les plus élevés dépassent 6 millions; le chiffre le plus bas qui ait été trouvé a été de 800 000 globules par millimètre cube.

Chez le même animal et dans les mêmes conditions, le nombre de globules, dans une quantité donnée de sang, diffère suivant le vaisseau dans lequel on le prend : c'est ainsi que le sang des capillaires de la peau donne un chiffre plus élevé que celui de l'aorte; celui des veines donne toujours un chiffre

plus élevé que celui des artères correspondantes[1]. Ces différences s'expliquent facilement : plus la circulation est rapide, plus les globules sont entraînés par le courant; plus au contraire elle est lente, plus les globules ont de tendance à s'attarder et à s'accumuler. Dans les régions périphériques, l'exhalation cutanée d'une part, l'absorption du plasma par les capillaires lymphatiques de l'autre, expliquent facilement pourquoi les globules s'y trouvent en nombre relativement plus considérable. Cependant il est une cause d'erreur que nous devons signaler dans la numération globulaire du sang des capillaires obtenu par piqûre. La goutte de sang étant très petite, ayant par conséquent une grande surface par rapport à sa masse, se trouvant d'autre part maintenue à une température de 36 à 37 degrés, s'il s'écoule un temps notable entre la piqûre et l'introduction du sang dans le mélangeur, l'évaporation pourra être suffisante pour concentrer le sang, et de cette façon le nombre proportionnel des globules sera notablement augmenté. Il faut donc toujours procéder avec une très grande rapidité, et prendre de la méthode une habitude telle que l'on emploie toujours le même temps pour faire toute l'opération. De cette façon on a des résultats comparatifs.

Globules blancs. — Les globules blancs du sang, soit des mammifères, soit des amphibies, sont absolument semblables par leur aspect et leurs propriétés aux cellules lymphatiques; aussi donnerons-nous indifféremment à ces éléments l'un ou l'autre de ces deux noms[2]. La dimension de ces globules est variable : les plus petits ont 4 μ de diamètre, les plus gros ont de 8 à 10 μ et jusqu'à 14 μ de diamètre.

Dans une préparation de sang d'homme qui vient d'être faite, les globules blancs présentent une forme sphérique; mais lorsque les globules rouges commencent à se mettre en piles, ce qui arrive au bout d'une à quelques minutes, les globules blancs se déforment et deviennent irréguliers. A la température ordinaire, ils ne présentent pas de mouvements amiboïdes, mais ils en montrent sous l'influence de la chaleur. De même que les cellules de la lymphe, ils peuvent être conservés sans subir de modifications pendant deux à trois jours dans la chambre humide, et au bout de ce temps leur activité se manifeste sous l'influence d'une température dépassant 20 à 25 degrés centigrades.

Les globules blancs de la grenouille ont des mouvements amiboïdes à la température ordinaire et prennent, comme les cellules lymphatiques, les formes les plus diverses. Une goutte de sang de grenouille, placée dans une chambre humide et abandonnée à elle-même pendant vingt-quatre heures, présente beaucoup plus de globules blancs à sa périphérie qu'à son centre;

1. Tous ces résultats ont été obtenus par M. Malassez au moyen de la méthode de numération qui vient d'être décrite. Les recherches ont été faites dans notre laboratoire, et nous pouvons témoigner des soins minutieux qui ont été pris pour arriver à l'exactitude la plus complète possible.

2. En France, on a aussi désigné les globules blancs sous le nom de *leucocytes* (de λευκός, blanc, et κύτος, utricule). Heureusement ce mot n'a pas été adopté par tout le monde, car il ne fait que jeter de la confusion, en faisant supposer que les globules blancs sont des corps utriculaires, ce qui est complètement inexact.

ce qui prouve que, comme dans les préparations de la lymphe, les cellules, en se fixant sur les surfaces et en s'y transportant au moyen de leurs prolongements protoplasmiques, ont cheminé vers la périphérie à la rencontre de l'air. Dans ces conditions, les globules conservent leur vie et leurs mouvements pendant une dizaine de jours. Après cette époque, ni l'oxygène ni la chaleur n'y font apparaître aucun phénomène de vie; du reste, on distingue à leur intérieur un noyau net et des granulations graisseuses; quelques-uns contiennent en outre des fragments de globules rouges qu'ils ont absorbés.

En un mot, chez les batraciens comme chez les mammifères, les globules blancs présentent les mêmes phénomènes que les cellules lymphatiques.

Comme les cellules de la lymphe, les globules blancs du sang ont des formes variées. Les uns sont très petits, de 4 à 6 μ, possèdent un noyau volumineux et une quantité minime de protoplasma qui est susceptible de transformations amiboïdes; seulement les prolongements y sont très grêles, en raison de la faible masse qui les fournit. Parmi les plus gros globules blancs, il y en a qui sont vaguement et très finement granuleux; ce sont ceux qui ont les expansions les plus longues et les déplacements les plus étendus. D'autres enfin possèdent dans leur intérieur des granulations sphériques, brillantes, qui ne semblent pas avoir toutes la même composition. Certaines paraissent de nature graisseuse, d'autres se colorent par le carmin et sont analogues aux granulations des cellules lymphatiques des crustacés (voy. LYMPHE). Enfin, quelques-uns des globules blancs du sang, aussi bien chez les mammifères que chez les grenouilles, donnent avec l'iode les réactions de la matière glycogène.

Parmi les globules blancs ou les cellules lymphatiques du sang de l'axolotl, ce sont surtout les grands à protoplasma clair qui donnent lieu au phénomène du bourgeonnement de leur noyau et de la division de leur masse protoplasmique décrits page 156.

Le nombre des globules blancs dans une préparation de sang normal est toujours bien inférieur au nombre des globules rouges. Il y a environ un globule blanc pour 350 ou pour 500 globules rouges; il est facile de déterminer ce rapport au moyen de la méthode de numération que nous avons indiquée pour les globules rouges. On trouve par ce procédé qu'il y a en moyenne 8000 globules blancs dans un millimètre cube de sang chez l'homme. Mais le nombre de globules blancs que présente le sang est si variable suivant le vaisseau dans lequel on le prend et suivant d'autres conditions, qu'il n'est possible d'en donner qu'une moyenne approximative[1].

1. Ce n'est que dans les cas exceptionnels, où le nombre des globules blancs est extraordinairement augmenté, que leur numération peut servir à constater un état pathologique, la leucocythémie. Un procédé simple pour constater immédiatement si le nombre des globules est beaucoup au-dessus du chiffre normal consiste à compter ceux qui se présentent dans le champ du microscope avec un grossissement donné. Dans le sang normal, avec les systèmes,

Objectif 7, oculaire 2, de Hartnack,
Id. 6, — 1, de Verick.
Id. 5, — 1, de Nachet,

il y a en moyenne 3 ou 4 globules blancs dans le champ du microscope. S'il s'en trouve

Dans tous les points du système vasculaire où la circulation est ralentie, il y a une accumulation de globules blancs. Voici une expérience qui rend ce fait bien évident : chez une grenouille attachée sur le dos, ou immobilisée de toute autre façon, on pratique à la paroi abdominale une incision entre les lèvres de laquelle un poumon vient faire hernie; à la base de ce poumon on place une ligature assez lâche; puis il est rentré dans le corps de l'animal. Au bout de huit à dix minutes, les deux poumons sont enlevés et placés pendant quelques heures dans une solution concentrée d'acide picrique; ensuite ils sont fendus longitudinalement, étalés sous l'eau, puis étendus par fragments sur une lame de verre dans de la glycérine. Dans les capillaires du poumon qui n'avait pas été ligaturé, les globules blancs sont très rares, tandis que dans le poumon ligaturé, ils sont nombreux. Ce fait s'explique facilement par la propriété qu'ont les globules blancs, comme toutes les cellules lymphatiques, d'adhérer aux surfaces. La circulation, ayant perdu de sa vitesse par suite de la ligature, est cependant suffisante pour faire cheminer les globules rouges, mais elle ne peut détacher les globules blancs qui se sont fixés à la paroi vasculaire. Ceux-ci sont donc arrêtés et s'accumulent. Nous reviendrons sur ces phénomènes lorsque nous parlerons des vaisseaux et de la circulation.

La propriété adhésive des globules blancs se démontre par une expérience fort simple. Une préparation de sang faite comme d'habitude est fermée partout, excepté en deux points opposés l'un à l'autre. A l'un de ces points, on met au bord de la lamelle une goutte d'eau ou d'eau salée à 7 pour 1000 et à l'autre une languette de papier à filtrer. Il se produit à travers la préparation un courant rapide qui entraîne les globules rouges. Les globules blancs, au contraire, restent immobiles et forment des obstacles contre lesquels le torrent des globules rouges vient se heurter et se diviser sans les déplacer. Dans cette circonstance, les globules rouges prennent les formes les plus variées suivant les obstacles qu'ils rencontrent, les corps auxquels ils s'accrochent en passant, les espaces resserrés qu'ils ont à traverser; en un mot, suivant les diverses conditions physiques auxquelles ils sont soumis.

Il vaut mieux employer pour cette expérience de l'eau salée, parce qu'elle ne détruit pas les globules rouges comme le fait l'eau pure, et qu'elle ne rend pas les globules blancs transparents.

D'après les expériences que nous venons de décrire, il est facile de voir que, dans tous les points de l'organisme où existera un ralentissement ou une gène de la circulation, on devra s'attendre à rencontrer une accumulation de globules blancs. Une série de faits pathologiques en témoigne, du reste, suffisamment.

Granulations libres. — Les granulations libres, que l'on observe dans

dans une préparation un chiffre notablement plus élevé, 10 par exemple, on pourra en conclure, à première vue, que le nombre des globules blancs dans le sang est au-dessus de la normale. Cette méthode est bonne à plus forte raison, si le nombre des globules blancs est plus considérable, par exemple s'il y a un globule blanc sur deux ou trois globules rouges, comme il arrive quelquefois.

le sang à côté des globules rouges et des globules blancs, sont très nombreuses; c'est là ce que Zimmermann[1] appelait des vésicules élémentaires.

Une préparation de sang d'homme, examinée après que les globules rouges se sont groupés en piles, permet d'observer facilement ces granulations dans les espaces laissés entre les piles, et d'en distinguer deux espèces. Les premières sont sphériques comme de petites gouttelettes de graisse; les autres sont anguleuses ou de forme variée et paraissent au premier abord être des débris de globules blancs, mais elles diffèrent de ces derniers en ce que l'eau ne les altère pas. Elles sont colorées par l'iode, mais elles demeurent incolores dans les solutions carminées. Nous verrons bientôt que ces caractères sont les mêmes que ceux de la fibrine, et nous reviendrons sur l'importance que ces granulations acquièrent par ce rapprochement.

Dans les préparations de sang de grenouille, il est facile de constater l'existence de ces deux espèces de granulations; les granulations anguleuses paraissent même y avoir des dimensions plus considérables que dans le sang des mammifères.

Chez les animaux à la mamelle et chez les enfants, le sang contient, en outre des granulations libres, des granulations innombrables semblables à celles du chyle; dans ces cas, le sérum du sang est lactescent[2].

Fibrine. — Nous avons dit au début qu'une préparation de sang, soit de mammifères, soit de batraciens, présente au bout de quelques minutes, outre les éléments figurés, globules rouges, globules blancs et granulations libres, dont nous venons de nous occuper, des filaments s'étendant en divers sens, et qui ne sont autres que la fibrine. Nous allons étudier maintenant plus attentivement la forme de la fibrine au moment où elle apparaît et lorsqu'elle est définitivement constituée, d'abord dans le sang de la grenouille, ensuite dans le sang des mammifères, dans celui de l'homme en particulier.

Une goutte de sang extraite du cœur de la grenouille par le procédé que nous avons indiqué page 152, est mise sur une lame de verre et recouverte immédiatement d'une lamelle supportée par de petites cales, pour que la couche de sang soit bien régulière. Elle peut aussi être placée sur le disque de la chambre humide. Les bords de la lamelle à recouvrir sont lutés avec de la paraffine, et la préparation est abandonnée à plat pendant quinze à vingt heures. Au bout de ce temps, les globules rouges présentent un arrangement régulier. En certains points, ils forment de petits îlots arrondis, d'une forme élégante, semblables à des rosaces. De leurs bords partent des rayons qui vont se confondre avec des rayons semblables venus des rosaces voisines. Les globules rouges qui forment les rosaces ne sont pas semblables

1. *Zimmermann*, Rust's Magazin, t. LXVI, p. 171.

2. Depuis la publication de la première édition de cet ouvrege dont je viens de reproduire le texte sans aucune modification, MM. Hayem et Bizzozero se sont disputé la découverte des granulations libres du sang, l'un les appelant hématoblastes, l'autre, plaquettes sanguines. M. Hayem pense que les granulations libres sont destinées à devenir des globules rouges. C'est pour cela qu'il les a appelées hématoblastes; mais ce n'est là qu'une hypothèse, car elle ne repose sur aucune expérience.

à ceux qui flottent librement dans la préparation; ils sont sphériques, plus colorés, plus brillants et moins larges que ces derniers. A un grossissement de 150 diamètres, on a de la peine à les reconnaître comme des globules rouges; on dirait simplement des granulations colorées. Mais si on les examine à un grossissement plus fort, et surtout si l'on a séparé les globules en imprimant des mouvements à la masse par des pressions exercées dans divers sens sur la lamelle, il est facile de voir qu'ils ont pris la forme d'une poire. Lorsque les groupes ne sont pas encore décomposés, la grosse extrémité du globule devenue piriforme est dirigée du côté de l'œil de l'observateur, tandis que sa petite extrémité est englobée dans le réticulum fibrineux. Voici comment nous comprenons cette déformation des globules rouges. : la fibrine, en se formant, a entouré les globules, et lorsqu'elle est revenue sur elle-même, elle les a étreints de manière à refouler au dehors une partie de la masse globulaire qui a pris alors tout naturellement la forme sphérique, comme la prendrait une vessie de caoutchouc à moitié pleine d'eau, si on la serrait avec la main de manière à refouler le liquide. Il est facile de s'assurer que les rayons qui partent des rosaces et dont nous avons parlé un peu plus haut, sont formés par de la fibrine qui retient des globules rouges.



Fig. 62. — Sang de la grenouille conservé dans une préparation depuis vingt-quatre heures. — *aa*, rosaces centrales; *b*, rayon; *n*, globules rouges isolés. — 100 diam.

Pour observer le réticulum fibrineux du sang de l'homme, nous avons employé le procédé suivant : après avoir fait une préparation de sang un peu épaisse et bordée à la paraffine, nous l'avons abandonnée à elle-même pendant plusieurs heures; puis, après avoir gratté la paraffine et enlevé la lamelle, nous avons lavé à plusieurs reprises la couche de sang coagulé, en l'arrosant avec une pipette remplie d'eau distillée, jusqu'à ce que la lame ne présente plus de coloration; puis nous avons replacé la lamelle. A un grossissement de 400 à 500 diamètres, le réticulum fibrineux se montrait d'une façon nette et présentait une disposition fort intéressante. Des granulations anguleuses, ayant 1 μ à 3 μ de diamètre, partaient en divergeant des fibrilles

d'une grande minceur qui se divisaient et se réunissaient pour former des réseaux délicats.

Les fibrilles du réticulum fibrineux du sang de l'homme sont tellement fines que, pour les bien voir, il est nécessaire de les colorer avec l'iode ou le sulfate de rosaniline (ni le carmin ni le picrocarminate ne colorent ce réseau).

Les granulations qui servent de centre à chaque petit réticulum fibrineux ont les mêmes propriétés micro-chimiques que les fibrilles; elles ne sont ni gonflées ni amoindries par l'eau, qui n'y détermine pas de vacuoles. Elles ne sont donc pas formées par des débris de globules rouges ou blancs. Jamais du reste on ne voit ni un globule blanc, ni un globule rouge servir de point de départ à un réticulum. Les globules blancs qui restent dans la préparation après le traitement par l'eau demeurent isolés, sphériques et facilement reconnaissables à leur réfringence; jamais il n'en part un prolongement fibrineux. D'autre part, il n'y a jamais de réticulum formé autour d'une vacuole arrondie, ce qui serait le cas s'il s'était développé un réseau autour d'un globule rouge qui ensuite aurait été enlevé ou dissous par le lavage. Ces granulations sont colorées par l'iode et le rouge d'aniline, comme les fibrilles qui s'en détachent, et leur coloration paraît même plus intense, parce qu'elles sont plus épaisses que les fibrilles.

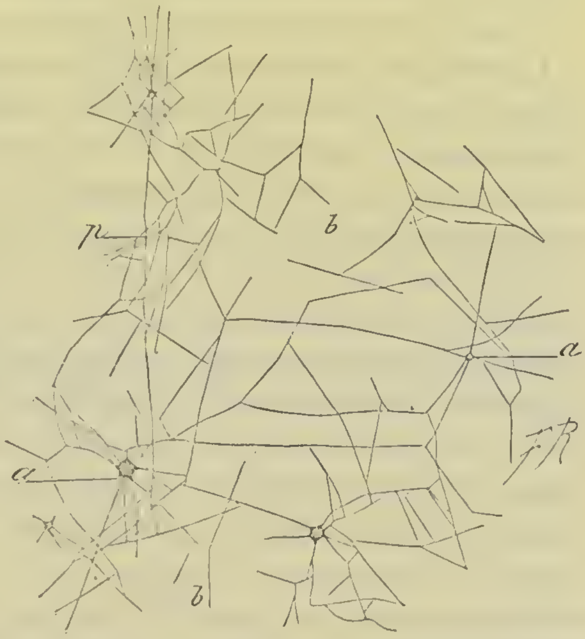


Fig. 65. — Réticulum fibrineux du sang de l'homme, dessiné après coloration avec le sulfate de rosaniline. — *a*, granulation libre formant le centre d'un système du réticulum; *b*, fibre du réticulum.

Pour bien apprécier leur nature, il convient de les étudier au moment de la formation de la fibrine; ce que l'on peut faire en examinant une préparation ordinaire de sang humain, lorsque l'on a bien pris connaissance du réticulum à l'aide des méthodes indiquées plus haut. Dès que la préparation est placée sous le microscope (et il ne s'écoule que quelques secondes, si l'on a pris soin, avant de faire la piqûre, de préparer la lame et la lamelle), il s'y présente, entre les globules, des granulations irrégulières ayant environ 1 μ de diamètre. Ces granulations sont plus faciles à reconnaître au moment où les globules rouges forment des piles entre lesquelles existent des espaces clairs; c'est dans ces espaces qu'elles se montrent avec netteté. En poursuivant l'observation, on les voit grossir progressivement et devenir anguleuses. De leurs bords partent des prolongements qui sont les premières travées du réticulum fibrineux. Ce réticulum se complète ensuite peu à peu [1].

1. Société de Biologie, 1873.

D'après ces observations, il est probable que les granulations anguleuses sont de petites masses de fibrine, et qu'elles sont des centres de coagulation, de la même façon qu'un cristal de sulfate de soude plongé dans une solution du même sel est le point de départ de la cristallisation. Il serait important de savoir si ces granulations existent dans le sang qui circule dans les vaisseaux. Nous n'avons pu encore nous en assurer, mais, comme on les voit dans le sang au bout du temps si court qu'il faut pour exécuter une préparation, il est bien probable que ce sont là des éléments normaux du sang[1].

Origine des éléments du sang. — Il est admis généralement que les globules blancs du sang proviennent de la lymphe; il est possible qu'ils en viennent tous; il est aussi possible qu'ils se multiplient dans le sang.

Il reste à savoir où naissent les cellules lymphatiques elles-mêmes. Nous avons vu qu'elles se multiplient par division (voy. p. 157). Elles peuvent en outre prendre naissance dans les interstices du tissu conjonctif. Il peut aussi s'en produire dans les ganglions lymphatiques. Aucune de ces origines n'est encore prouvée d'une manière certaine.

Le mode de formation des globules rouges n'est pas encore bien connu.

Lorsque l'on étudie les globules rouges des têtards de la grenouille rousse, du septième jour au quinzième jour après la fécondation, soit en observant directement les capillaires et leur contenu sur l'expansion membraneuse de la queue de ce petit animal immobilisé par le curare, soit en examinant le sang qui s'écoule d'une incision pratiquée sur cette expansion membraneuse, on voit que ces globules qui contiennent manifestement de l'hémoglobine possèdent encore dans leur masse, à côté du noyau, des granulations vitellines, d'autant plus grosses et d'autant plus abondantes que l'embryon est plus jeune. La présence de ces granulations dans l'intérieur même des globules rouges du sang nous suggère trois hypothèses sur le mode de développement de ces globules : ils ont la propriété de former dans leur intérieur des granulations vitellines; ou bien ils ont joui à une certaine époque de propriétés amiboïdes analogues à celles des globules blancs qui leur ont permis d'absorber ces granulations placées dans leur voisinage; ou bien enfin ils sont un produit ultime de segmentation de la masse primitive de l'embryon. Dans l'état actuel de la science, la première hypothèse n'est guère acceptable et la dernière est la plus probable.

Comme les globules rouges présentent des noyaux chez les amphibies et chez les poissons, et qu'ils en ont chez l'homme pendant la vie embryonnaire, on a pensé qu'ils proviennent des globules blancs.

Recklinghausen a essayé de le démontrer par une expérience dont il nous a indiqué verbalement la plupart des détails[2].

Il faut, pour la faire, se munir d'un vase de verre cylindrique d'une

1. On comprend comment, après avoir pris connaissance du texte que l'on vient de lire et qui est celui de la première édition de cet ouvrage, M. Hayem ait soutenu que les hématoblastes (granulations libres, voy. p. 175) sont les agents de la formation de la fibrine.

2. Les résultats de cette expérience se trouvent indiqués approximativement dans les Archives d'anatomie microscopique de *M. Schultze*, t. II, p. 137.

capacité de 2 à 5 litres, d'un petit creuset de porcelaine, d'un verre de montre et d'une assiette. Il faut en outre avoir du papier à filtrer et de l'eau aiguisée de $\frac{1}{100}$ d'acide sulfurique. L'animal qui sert à l'expérience doit être une grosse grenouille verte, bien portante, sans ulcération, ni plaie.

Le verre de montre est placé comme un couvercle sur le creuset après que l'un et l'autre ont été chauffés au gaz ou à la flamme d'une lampe à alcool. Dès qu'ils sont refroidis, on pratique à la grenouille, dont on a immobilisé les membres par des ligatures solidement assujetties, une incision au-devant du sternum. Cette incision est faite avec des ciseaux flambés. Puis, avec les mêmes ciseaux on coupe transversalement le sternum au niveau de sa symphyse inférieure, on le dégage latéralement, et on en résèque une partie. Par la fenêtre ainsi établie on aperçoit battre le cœur dans son enveloppe péricardique. Le feuillet pariétal du péricarde est alors incisé et la pointe du cœur dégagée vient faire saillie. Alors, enlevant le verre de montre qui couvre le creuset, on dispose la grenouille de telle sorte qu'après avoir réséqué la pointe du cœur, le sang tombe goutte à goutte dans le creuset, sans toucher à aucune autre partie de l'animal qu'au cœur lui-même. Alors le grand vase qui jusque-là avait été conservé rempli d'eau est vidé, et au fond de celui-ci sont placés plusieurs doubles de papier à filtrer imbibé de l'eau aiguisée d'acide sulfurique. Sur le papier est placé le creuset. Au bord du vase est disposée une couronne de papier à filtrer imbibée d'eau acidulée et le tout est recouvert de l'assiette qu'on a préalablement lavée avec l'eau acidulée.

Ces précautions minutieuses sont destinées et servent, en effet, à prévenir le développement de microbes dans le sang. La chaleur a détruit les germes qui pouvaient exister sur le creuset, le verre, les ciseaux ; l'acide sulfurique qui imbibe le papier à filtrer a l'avantage d'être hygrométrique et d'assurer par conséquent, en maintenant humide le papier à filtrer, la fermeture entre le vase et l'assiette. De plus, il détruit les germes qui pourraient passer avec l'air qui pénètre dans le vase par suite des variations de pression.

Dans ces conditions, les éléments du sang peuvent vivre quinze jours et même un mois, sans qu'il s'y développe ni bactéries, ni microbes d'aucune espèce.

Nous avons fait trois de ces appareils que nous avons abandonnés à eux-mêmes l'un dix jours, l'autre quinze jours et le troisième vingt-cinq jours.

Au bout de dix jours, la fibrine était redissoute.

Au bout de vingt cinq jours, nous avons retrouvé les globules rouges intacts ou avec des boules sur leurs bords; il y en avait d'échancrés. Quelques-uns des globules blancs avaient conservé leurs mouvements amiboïdes et avaient mangé des boules formées aux dépens des globules rouges.

Outre ces globules bien caractérisés, on trouvait des cellules fusiformes, des globules rouges qui avaient perdu leur hémoglobine et étaient déformés de diverses manières. Mais rien n'autorisait, dans tout ce qui a été vu, à dire que des globules blancs s'étaient transformés en globules rouges. En tout cas, ils ne subiraient pas tous cette transformation, car, au bout de vingt-

cinq jours, il en reste beaucoup; il paraît même y en avoir un aussi grand nombre qu'il y en avait au début.

Chez les oiseaux dont les globules rouges sont ovoïdes et nucléés comme ceux des batraciens, il est facile d'observer la première formation des globules rouges dans les îlots sanguins de Pander. Ces îlots sont constitués à l'origine par des cellules toutes semblables. Les marginales concourent à la formation de la paroi vasculaire; les centrales deviennent des globules rouges. Pour les détails, voir l'article consacré au développement des vaisseaux.

La première formation des globules rouges se fait chez les mammifères comme chez les oiseaux. Ces globules sont sphériques et nucléés. Comment ces globules rouges nucléés font-ils place à des globules rouges discoïdes sans noyaux? Comment chez l'adulte, se forme-t-il de nouveaux globules rouges sans noyaux pour remplacer ceux qui disparaissent incessamment dans l'évolution nutritive? Ce sont là des problèmes pour la solution desquels, nous avons aujourd'hui quelques données certaines qui jalonnent le chemin que les histologistes doivent parcourir maintenant.

A propos du développement et de l'accroissement des vaisseaux, nous montrerons que, dans le grand épiploon du lapin, dans les premières semaines qui suivent la naissance, il apparaît entre les cellules qui forment des taches opalines, taches laiteuses, des éléments cellulaires auxquels nous avons donné le nom de cellules vasoformatives. Dans le protoplasma de ces cellules, sans que leurs noyaux y participent, se forment des globules rouges discoïdes sans noyaux qui, dans la membrane fixée par le liquide de Müller ou l'acide picrique et traitée ensuite par l'éosine, se colorent vivement. Les globules rouges peuvent donc se développer, chez les mammifères, au sein du protoplasma, par suite de son activité nutritive, comme les grains d'amidon ou de chlorophylle se développent dans les cellules végétales.

On observe, dans la moelle rouge des os chez le poulet, dans le fémur ou le tibia chez le lapin et le cochon d'Inde, dans le canal central des os longs, des éléments cellulaires particuliers chargés d'hémoglobine qui jouent un rôle important dans la formation des globules rouges du sang. Quel est exactement ce rôle? C'est là une question que l'on a beaucoup discutée et sur laquelle les histologistes ne s'entendent pas encore aujourd'hui. Parlons d'abord des éléments formateurs des globules rouges ou hématopoiétiques que l'on observe dans la moelle rouge des os des oiseaux.

Neumann[1] et Bizzozero[2] ont soutenu que, dans la moelle et dans les autres organes hématopoiétiques, les globules rouges nucléés provenaient des globules blancs ou cellules lymphatiques. D'autres observateurs, Kölliker, Rindfleisch entre autres, ont montré que, entre les véritables globules blancs et les globules rouges, on ne saurait trouver tous les intermédiaires. Neumann lui-même s'est rattaché à leur manière de voir. Plus

1. *Neumann*. Ueber die Bedeutung des Knochenmarkes für die Blutbildung (*Centralblatt*, 1868, p. 689).

2. *Bizzozero*. Sulla funzione ematopoietica del midollo delle ossa (*Gazetta medica Italiana-Lombardia*, nov. 1868).

récemment, M. Malassez, ayant repris l'étude de cette intéressante question, a montré que les éléments cellulaires incolores qui, par des transformations successives presque insensibles, arrivent à former des globules rouges nucléés, ne sont pas des globules blancs; ils n'ont pas de mouvements amiboïdes et contiennent un noyau volumineux et sphérique.

Chez les mammifères, la question est plus compliquée. Dans la moelle rouge, dans la pulpe splénique, dans le foie et même dans la masse du sang chez les embryons, il se fait des globules rouges nucléés aux dépens de cellules incolores et, à propos de l'édification de ces globules se présente la même discussion que pour la formation des globules rouges chez les oiseaux, les reptiles et les batraciens. A cette discussion s'en ajoute une autre : Comment les globules rouges nucléés sphériques donnent-ils naissance à des globules rouges dépourvus de noyaux? Kölliker, s'appuyant sur des observations qu'il avait faites sur le foie fœtal, avait soutenu que le noyau des globules rouges nucléés disparaît *in situ* par régression.

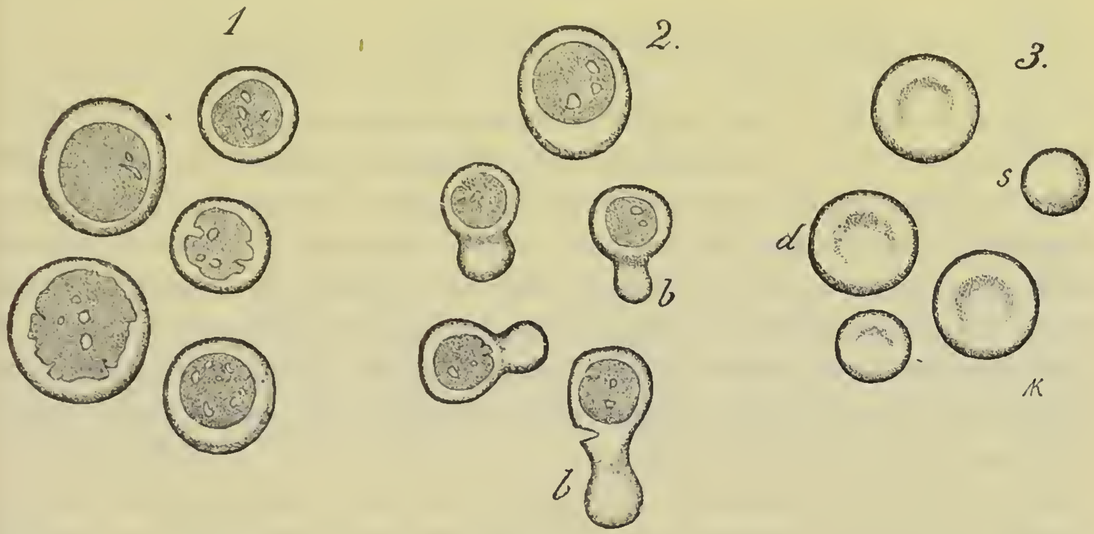


Fig. 64. — 1 et 2, éléments cellulaires nucléés, chargés d'hémoglobine, trouvés dans la moelle rouge du lapin: 1, cellules sphériques; 2, cellules bourgeonnantes aux différents stades de la formation des bourgeons *b*, qui se détacheraient pour former des globules rouges discoïdes, 3, *d*, ou sphériques, 3, *s*.

Neumann et Bizzozero ont formulé la même manière de voir sur la formation des globules rouges dans la moelle des os. Plus récemment, Rindfleisch[1] a soutenu que le noyau ne disparaît pas par régression mais par migration ou expulsion. Le noyau étant parti, il resterait une masse de protoplasma chargée d'hémoglobine qui constituerait un globule discoïde sans noyau.

Enfin, il y a quelques années, M. Malassez[2], ayant repris l'étude de cette question a formulé une troisième manière de voir qui diffère des précédentes et qui me paraît se rapprocher beaucoup plus de la vérité. Il est à

1. *Rindfleisch*, Ueber Knochenmark u. Blutbildung (*Arch. f. mikr. Anat.*, 1880, t. 17, p. 21).

2. *L. Malassez*, Sur l'origine et la formation des globules rouges dans la moelle des os (*Arch. de Physiologie*, 1882, t. 9, p. 1).

noter d'abord que, pour faire ces observations, il a employé des méthodes bien meilleures que celles de ses devanciers : la fixation par les vapeurs d'acide osmique, la coloration par le picrocarminate d'ammoniaque et par l'hématoxyline et l'éosine. Un fragment de la moelle rouge du lapin, du du cochon d'Inde, du chevreau, est rapidement dissocié sans l'addition d'aucun réactif sur la lame de verre ou bien cette lame est simplement portée au contact de la moelle. Elle retient à sa surface un nombre suffisant d'éléments cellulaires.

On l'expose pendant quelques minutes aux vapeurs d'acide osmique, on colore par le picrocarminate. On reconnaît ainsi que les cellules sphériques nucléées, chargées d'hémoglobine, émettent des bourgeons qui s'étranglent à leur base et se détachent pour donner naissance à des globules rouges discoïdes sans noyau, tandis que le corps de la cellule continue son évolution pour donner naissance, sans doute, à de nouveaux bourgeons et, par conséquent, à de nouveaux globules rouges discoïdes.

RÉSUMÉ DES NOTIONS ACQUISES SUR LE SANG

Les observations et les expérimentations diverses auxquelles nous avons soumis le sang nous ont fourni quelques données certaines sur sa constitution, en même temps qu'elles nous ont amené à une série de questions non encore résolues. Nous allons résumer ici brièvement le peu de faits que nous avons pu reconnaître comme certains, et puis nous indiquerons les problèmes qui restent à résoudre à propos de chaque partie du sujet.

Nos études sur les globules rouges nous ont appris à connaître leurs dimensions, leur forme chez les différents animaux, leur nombre approximatif dans une quantité donnée de sang.

Les changements de forme que nous avons vu survenir aux globules par suite de conditions simplement physiques, comme par exemple par suite de l'étroitesse ou de la forme tortueuse des passages à travers lesquels les entraîne un courant sanguin, nous montrent que la matière dont ces globules sont composés est extensible et élastique, susceptible de s'allonger, de s'amincir, de prendre des formes diverses. Les aspects que nous ont présentés les globules dans ces conditions et dans diverses autres, comme par exemple par l'action de la chaleur, nous portent à penser, avec la majorité des histologistes, que ces globules n'ont pas une véritable membrane. Cependant l'action remarquable de l'alcool dilué et du rouge d'aniline démontre, aussi bien pour les globules des mammifères que pour les globules des amphibies, qu'il y a à la périphérie de ces globules une couche particulière nettement limitée par un double contour.

Quant à la forme singulière et spéciale de ces globules, discoïde avec un renflement sur les bords, ou ellipsoïde aplatie, nous n'en connaissons absolument pas la raison. En s'appuyant sur l'observation des globules plissés que nous avons décrits, on a admis qu'il y avait dans les globules elliptiques des filaments qui unissent le noyau à la périphérie du globule, et qui en dé-

termineraient ainsi la forme, et l'on a supposé qu'il y avait quelque chose de semblable dans les globules discoïdes. Mais nous avons vu que cette observation repose sur une illusion d'optique et que les filaments ou prolongements protoplasmiques dont certains auteurs ont parlé n'existent point. Cette théorie tombe donc avec l'erreur qui lui a donné naissance.

La forme et le volume constant des globules rouges ont amené à penser que ces corps sont, ou bien des cellules proprement dites, ou bien des cellules transformées; en d'autres termes, qu'un globule était formé à l'origine par une cellule complète. La présence des granulations vitellines dans les globules rouges de l'embryon de grenouille, l'existence d'un ou de plusieurs nucléoles dans ces globules chez l'animal adulte, viennent donner un nouvel appui à cette manière de voir.

Quant à la constitution chimique des globules rouges, nous savons qu'ils sont composés d'un stroma albuminoïde et d'une matière colorante, l'hémoglobine. La spectroscopie nous a appris que cette matière colorante, cristallisable et définie, existe normalement dans le sang, tandis que ses dérivés, l'hématine, l'hémine, etc., sont des produits artificiels. Mais nous ignorons absolument comment le stroma se trouve disposé dans le globule, si c'est un lacis, une sorte d'éponge dans laquelle se trouve l'hémoglobine, ou en général quelle est la construction intime du globule sanguin.

Nous avons reconnu l'identité des globules blancs et des cellules lymphatiques; ils ont les mêmes conditions de vie, de mouvements, d'échanges chimiques que ces cellules, et par conséquent nous renvoyons à ce que nous en avons dit au chapitre précédent; nous avons montré en outre que le nombre plus ou moins grand de ces éléments, que l'on trouve dans un sang donné, tient surtout à la facilité et à la rapidité plus ou moins grandes du courant sanguin.

Outre les globules, nous avons appris à distinguer dans le sang deux sortes de granulations, les unes rondes, les autres anguleuses et servant de points d'origine au réticulum fibrineux. Nous connaissons la disposition de ce réticulum chez les mammifères et chez les amphibies, et les réactions microchimiques qui en distinguent les fibrilles; mais nous ne savons rien encore sur la cause de la coagulation du sang en dehors des vaisseaux.

Quant à la formation des globules rouges chez l'adulte, il n'est absolument pas démontré jusqu'à présent qu'ils dérivent des globules blancs, malgré les expériences de Recklinghausen. Cependant, d'une part, leur nature cellulaire, démontrée par la présence du noyau et du nucléole chez les batraciens, et d'autre part, l'absence de signes de multiplication dans les globules rouges des mammifères une fois formés, puisqu'ils ne renferment pas de noyau, conduisent à penser qu'ils dérivent d'une autre espèce de cellules. Dans cette hypothèse, on ne voit aucun élément de l'organisme, en dehors des globules blancs, auquel on puisse attribuer leur production. Reste alors la question de l'origine des globules blancs. Nous avons vu qu'ils peuvent se multiplier et faire souche. Cette multiplication peut avoir lieu dans la lymphe, dans le sang, dans les ganglions lymphatiques, voire même dans

les interstices du tissu conjonctif, car l'hypothèse qui les faisait naître spontanément dans un blastème n'est plus admissible.

En somme, il reste encore à résoudre, à propos du sang, un grand nombre de problèmes; les résultats que nous avons indiqués constituent à peu près l'ensemble de ce que la science a acquis de certain sur ce point jusqu'aujourd'hui.

Les résultats que nous venons de résumer permettent, malgré leur insuffisance et les nombreuses lacunes qui restent à combler dans cette partie de l'histologie, de tirer des faits quelques déductions intéressantes sur le rôle du sang dans l'économie.

Comme nous aurons l'occasion de le démontrer plus complètement dans la suite de ces études, en traitant de la circulation, le sang, contenu dans un système de canaux limité et formant un circuit fermé, ne se trouve nulle part en communication directe avec les tissus; il n'est donc pas exact de dire que les tissus de l'économie sont baignés dans le sang, et que c'est le milieu dans lequel ils vivent. Le liquide dans lequel les organes sont plongés et dont ils sont imbibés, c'est comme nous l'avons vu, la lymphe; c'est la lymphe qui sert d'intermédiaire entre le sang et les éléments des tissus.

S'il n'est pas directement en contact avec les éléments, le sang n'en a pas moins vis-à-vis d'eux une fonction très importante, celle de leur apporter l'oxygène dont ils ont besoin. Les recherches histologiques récentes, et en particulier les découvertes faites avec le spectroscope, ont mieux précisé le mécanisme de l'hématose et montré que l'oxygène n'est pas charrié indifféremment par toutes les parties du sang. C'est l'hémoglobine, contenue exclusivement dans les globules rouges, qui a la propriété, comme l'ont démontré Hoppe Seyler et Stokes, d'entrer en combinaison avec l'oxygène; cette substance peut, comme nous l'avons vu, s'oxygéner, être réduite, et puis s'oxygéner de nouveau. Les globules rouges, entraînés par le courant sanguin dans toutes les parties de l'organisme, y apportent avec eux l'hémoglobine, et, par son intermédiaire, l'oxygène dont elle s'est chargée lors du passage des globules dans les capillaires pulmonaires. C'est donc par le moyen de ces organites que l'oxygène est mis à la portée de tous les éléments irrigués par les capillaires sanguins. A ce point de vue, le système vasculaire sanguin remplit donc chez les animaux supérieurs la même fonction que remplissent les trachées chez les insectes. Ces dernières présentent un réseau encore plus ramifié et à terminaisons beaucoup plus fines que les capillaires sanguins; elles sont aussi destinées à amener l'oxygène au contact des tissus, mais elles l'y apportent en nature, tandis que chez les animaux supérieurs il y est amené par l'intermédiaire des globules rouges.

Nous avons remarqué, en étudiant l'action des divers réactifs sur les globules sanguins, qu'ils ne se comportent pas tous de la même façon vis-à-vis du même réactif qui les atteint en même temps : il s'en trouve qui perdent leur forme dès les premiers instants, d'autres qui la conservent pendant des heures; certains abandonnent leur hémoglobine dès qu'ils sont mis en contact avec l'eau; d'autres, au contraire, conservent longtemps leur

couleur jaune. Ces différences dans l'action des réactifs paraissent tenir à des différences dans la vitalité des globules et viennent de ce que ces globules sont dans des périodes d'évolution différentes. Dans les premiers temps, dans une période plus rapprochée de celle de leur formation, c'est du moins ce que nous supposons, ils opposeraient à la destruction une force de résistance plus grande que dans la suite. Il y aurait donc des périodes dans la vie des globules où ils résisteraient moins aux actions chimiques. Si nous rapprochons de ces observations le fait que nous avons signalé (p. 157), la destruction des globules rouges par la bile, il paraît assez vraisemblable qu'il y a dans le corps des organes où les globules rouges, à une période donnée de leur évolution, peuvent perdre leur forme et disparaître comme éléments en se dissolvant dans le plasma, dont ils augmenteraient la richesse nutritive. Les globules sanguins, outre qu'ils portent l'oxygène, auraient donc encore pour rôle de transporter dans l'organisme des matières nutritives sous un petit volume et de servir ainsi à la nutrition.

Ce fait n'est du reste pas isolé; dans les cellules lymphatiques de l'écrevisse et du homard, nous avons signalé des granulations qui possèdent les mêmes caractères que les corpuscules vitellins de certaines espèces animales. Ces granulations paraissent avoir le même rôle que possèdent les globules rouges chez les animaux à sang chaud, celui d'être détruites pour servir à la nutrition. Ce qui confirme cette hypothèse, c'est précisément la ressemblance de ces granulations avec les corpuscules vitellins, car ces derniers sont évidemment destinés à la nutrition.

CHAPITRE III

ÉPITHÉLIUMS

L'étude des épithéliums a sa place marquée immédiatement après celle du sang et de la lymphe, car ce sont, après les tissus dont nous venons de parler, ceux dont la constitution est la plus simple et l'observation la plus facile.

Pour bien comprendre les épithéliums, il est nécessaire de les prendre à leur origine et de suivre leur développement. Aussi allons-nous commencer par une étude sommaire du premier développement de l'embryon.

Premières phases du développement des tissus dans l'embryon. — Tout embryon de vertébré naît dans un œuf. L'œuf des mammifères est constitué par une enveloppe, la membrane vitelline; un contenu cellulaire, le vitellus; un noyau, la vésicule germinative; dans l'intérieur de celui-ci, un ou plusieurs nucléoles, taches germinatives. Il représente donc une cellule telle que la concevait Schwann, c'est-à-dire un élément anatomique limité par une membrane et contenant un noyau muni de nucléoles.

L'œuf des oiseaux est constitué un peu différemment; il contient, outre la masse cellulaire proprement dite que l'on nomme le vitellus de formation, un vitellus de nutrition qui ne doit pas former directement les éléments de l'embryon. Les œufs de cette espèce sont dits *méroblastes;* les autres sont appelés *holoblastes*.

Nous n'entrerons pas ici dans les détails sur la formation de l'œuf. Nous nous contenterons d'indiquer en quelques traits les premières phases du développement de l'embryon, pour permettre au lecteur de saisir l'origine des différents épithéliums.

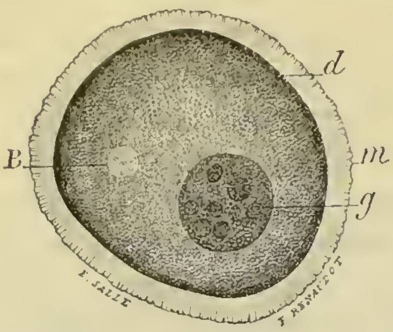


Fig. 65. — Ovule ovarien de la souris. — *m*, membrane vitelline; *d*, vitellus; *g*, vésicule germinative; B, corpuscule accessoire ou noyau de Balbiani. — 500 diam.

Ce sont des œufs de poule que l'on prend d'habitude dans les laboratoires pour observer les détails histologiques du développement, parce qu'il est toujours facile de s'en procurer en abondance et que, sur eux, l'incubation artificielle réussit très bien.

Prenons d'abord l'œuf de poule fécondé et non couvé. Laissons de côté la coquille, les enveloppes extérieures et le blanc ou albumine de l'œuf, et considérons seulement le jaune ou vitellus. Le jaune est maintenu au milieu de l'albumine par deux prolongements appelés *chalazes*. Ces prolongements s'insèrent au-dessous de son centre de gravité, de sorte qu'il garde toujours la même position par rapport à l'horizon, même quand l'œuf tourne autour de son axe. Aussi, lorsqu'on pratique une petite ouverture au niveau de l'équateur d'un œuf, on aperçoit, sur le jaune, gagnant toujours la partie supérieure, une tache blanchâtre qu'on appelle la cicatricule.

Si, après avoir fait durcir l'œuf par la coction, on fait au niveau de la cicatricule une coupe perpendiculaire à la surface du jaune, on voit que cette cicatricule se continue dans son intérieur par un filament qui se termine au voisinage du centre du jaune par un petit renflement. La cicatricule est ce que Pander a appelé la *plaque germinale* (Keimscheibe), et His, l'*archiblaste*. Le petit renflement ou nodule central a été appelé par Pander noyau central, et porte le nom de *noyau de Pander* ou latébra.

Douze à quatorze heures après la fécondation, on voit dans l'œuf de poule, lorsqu'il est encore dans l'oviducte, la première segmentation [1]. La cicatricule se divise en deux, puis en quatre, puis en huit segments. Ensuite la segmentation se continue suivant des plans qui ne passent plus par le centre de la cicatricule. En très peu d'heures, toute la masse est transformée en boules de segmentation.

Dans un œuf fécondé, pondu et non couvé, la cicatricule apparaît comme

1. La segmentation a été remarquée pour la première fois par Prevost et Dumas dans les œufs de grenouille (*Annales des sciences naturelles*, 1824, t. II, p. 110). Coste l'a observée dans l'œuf de poule (*Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1848, t. XXX, p. 638), et Bischoff (*Entwicklungsgeschichte des Kaninchenei es, Braunschweig*, 1842) et v. Baer, dans l'œuf des mammifères.

une tache blanche. Son centre est opaque, entouré d'une zone plus claire et d'un bord qui est de nouveau plus opaque.

Pour bien étudier la constitution de la cicatricule, la meilleure méthode, classique aujourd'hui, est la suivante : après avoir cassé l'œuf en un point, on enlève des fragments de coquille avec une pince; et le jaune, auquel il adhère toujours un peu d'albumine, est mis dans une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. A mesure que l'albumine se coagule, elle est enlevée avec la pince, jusqu'à ce qu'il n'en reste plus à la surface du jaune; celui-ci est placé alors dans une nouvelle solution d'acide chromique à 2 pour 1000 et y est laissé pendant huit à dix jours. Quand le durcissement est produit, la portion à laquelle appartient la cicatricule est enlevée avec un scalpel, lavée à l'eau distillée et placée dans une solution légère de carmin neutre, ou mieux encore dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100. Ensuite elle est mise dans de l'eau distillée, puis dans de l'alcool à 90 degrés, dans de l'alcool absolu et, finalement, dans de l'essence de térébenthine ou de girofle. On l'inclut dans un mélange de cire et d'huile dont on prend des proportions telles que la consistance du mélange soit à peu près la même que celle du tissu.



Fig. 66. — Œuf de poule fécondé, pondu et non couvé. Coupe perpendiculaire à la surface de la cicatricule. — *e*, couche cellulaire représentant le feuillet externe; *b*, boules de segmentation; *i*, cavité germinale; *n*, granulations du vitellus de nutrition. — 100 diam.

Les coupes doivent être faites à main levée avec un rasoir trempé dans de l'essence de térébenthine ou dans de l'essence de girofle. Une goutte de la même essence est mise sur la lame de verre, et l'on y fait glisser la coupe en trempant dans la goutte d'essence la partie du rasoir où elle se trouve. Ces coupes, après avoir été lavées avec l'essence, sont montées dans le baume du Canada ou dans la résine dammare. On peut également employer un mélange à parties égales de résine dammare dissoute dans l'essence de térébenthine et de mastic en larmes, dissous dans le chloroforme ou du baume du Canada dissous dans du xylol.

Il convient aussi d'étudier, isolés, les éléments qui constituent la cicatricule. Pour cela, on y plonge l'extrémité effilée d'une pipette, et on en obtient ainsi des portions semi-liquides, qui, déposées sur une lame de verre, montrent au microscope des boules de segmentation.

Peremeschko[1] a soutenu qu'à 32 ou 34 degrés les boules de segmentation ont des mouvements amiboïdes. Nous avons examiné ces boules à l'aide de la platine chauffante au degré indiqué, mais nous n'y avons pas observé de mouvements analogues aux mouvements amiboïdes. Il est fort possible que les mouvements observés par Peremeschko soient des mouvements passifs causés par les courants qui se produisent toujours dans les préparations lorsque l'on élève la température; sous l'influence de ces courants, les boules peuvent se déformer. Mais ces mouvements passifs ne sauraient être comparés aux mouvements amiboïdes, et pour être certain que ces sphères ont des mouvements propres, il faudrait y avoir constaté de vrais prolongements, analogues à ceux des cellules lymphatiques ou des courants intérieurs semblables à ceux que l'on observe dans certaines cellules végétales et dans quelques cellules animales (voy. p. 156). Traitées par le carmin, les boules de segmentation se gonflent et disparaissent, et, à l'endroit où elles se trouvaient, apparaît un noyau qui se colore en rouge. Ce noyau n'a pas un double contour et il possède des vacuoles.

Les coupes transversales faites au niveau de la cicatricule, sur un œuf pondu et non couvé, durci par la méthode que nous venons d'indiquer, montrent, à la surface de la cicatricule, sous la membrane du jaune, ou membrane vitelline, une couche constituée par plusieurs rangées de cellules superposées (fig. 66). Au-dessous, se trouvent des cellules sphériques de grandeur variable et remplies de grosses granulations. Ces cellules, dont la dimension dépasse le plus souvent, de beaucoup, celle des cellules unies en membrane dont nous venons de parler, sont des boules de segmentation. Elles sont isolées ou groupées en petit nombre; elles sont comme suspendues à la partie inférieure de la première couche.

La couche superficielle des boules de segmentation forme bientôt une membrane distincte constituée par une seule rangée de cellules toutes semblables, pressées les unes contre les autres, et présentant un aspect columnaire. Cette couche est le *feuillet externe* du blastoderme, ou *ectoderme*. La couche inférieure du blastoderme est formée d'éléments plus gros, arrondis, disposés irrégulièrement; elle représente le *feuillet interne* ou *endoderme*.

Au-dessous de l'endoderme, se trouve une cavité remplie de liquide, la cavité *sous-germinale*, renfermant quelques grosses boules de segmentation, et dont le plancher est constitué par une couche de vitellus finement granuleuse parsemée de noyaux se colorant par le carmin et les autres colorants nucléaires. Cette couche nucléée est le *parablaste* de His. Autour des noyaux s'organisent des cellules qui, plus tard, sont incorporées par l'embryon et sont, d'après His et Waldeyer, l'origine des cellules conjonctives et des globules sanguins. Pour étudier les transformations ultérieures du blastoderme présentant la constitution que nous venons de décrire dans l'œuf pondu, il faut mettre cet œuf en incubation, c'est-à-dire le placer sous une poule ou dans une étuve à 37 ou 38 degrés.

Pendant les premières heures de l'incubation, le blastoderme s'étend sur

1. *Peremeschko*, Wiener Sitzungsberichte, 1868.

le vitellus. Son centre devient transparent et forme ce qu'on appelle l'*aire pellucide*, tandis qu'à sa périphérie on observe une zone annulaire tout à fait opaque, l'*aire opaque*. L'aire opaque s'agrandit plus rapidement que l'aire pellucide qui prend une forme ovale. Dans des coupes du germe, à ce stade, on voit que le feuillet externe s'est épaissi en son milieu et qu'il est formé de deux couches de cellules. Dans le feuillet interne, les boules de segmentation, irrégulièrement disposées dans le germe de l'œuf non incubé, se sont aplaties et unies en une membrane continue qui forme le toit de la cavité sous-germinale. Entre cette membrane et l'ectoderme se trouvent encore des boules de segmentation isolées ou réunies par petits groupes, en connexion avec la membrane endodermique; ces boules sont d'autant moins nombreuses qu'on prend un œuf incubé depuis plus longtemps.

Bientôt à la partie postérieure de l'aire pellucide apparaît une traînée opaque, la *ligne primitive*. Des coupes transversales pratiquées dans cette région du blastoderme montrent qu'au niveau de la ligne primitive le feuillet externe épaissi est réuni au feuillet interne par une masse compacte de cellules. Cette masse est l'origine du troisième feuillet embryonnaire, le *feuillet moyen* ou *mésoderme*. De chaque côté de la ligne primitive, se forme, en effet, une couche pluricellulaire constituée par des cellules de forme étoilée et qui s'étend entre l'ectoderme et l'endoderme.

La ligne primitive s'accroît d'arrière en avant vers le centre du blastoderme et se creuse à sa surface d'un sillon peu profond, la *gouttière primitive*. En avant de la ligne primitive, apparaît ensuite la *gouttière médullaire* ou *sillon dorsal*, produite par deux replis du feuillet externe. Au niveau de cette

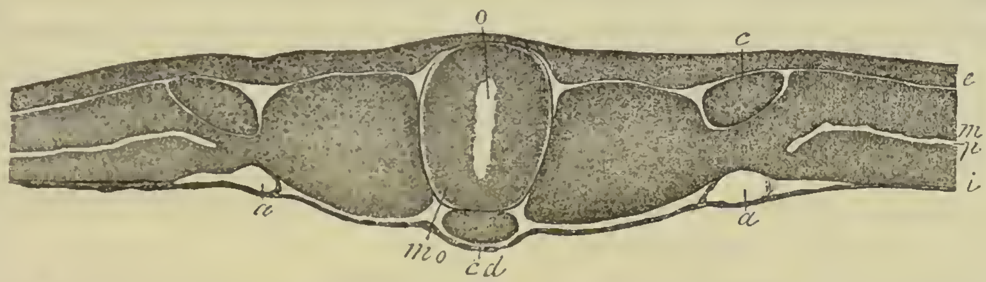


Fig. 67. — Embryon de poule après cinquante-six heures d'incubation. Coupe transversale de la région dorsale. — *e*, feuillet externe; *m*, feuillet moyen; *i*, feuillet interne; *p*, cavité pleuropéritonéale; *a*, aortes primitives; *mo*, moelle épinière; *c*, corps de Wolff; *cd*, corde dorsale; *o*, canal central de la moelle. — 110 diam.

gouttière, le mésoderme qui s'étend en avant de la tête de la ligne primitive ne présente plus de connexions avec l'ectoderme; mais ses cellules les plus profondes sont encore en rapport avec l'endoderme. Aussi, plusieurs auteurs, Balfour entre autres, pensent-ils que le mésoderme provient en grande partie de l'endoderme, en avant de la ligne primitive.

Au bout de trente-six à quarante-huit heures, le développement est beaucoup plus avancé. Dans une coupe perpendiculaire à l'axe spinal et passant par la partie moyenne de l'embryon, le sillon dorsal paraît fermé; il est devenu le canal médullaire (fig. 67); des deux côtés, on voit deux masses qui sont les vertèbres primitives; au-dessous du canal vertébral, se trouve la

corde dorsale *cd*; elle repose sur le feuillet interne. Entre ce dernier et le feuillet externe, on distingue la lame latérale *m*, qui, elle-même, se divise en deux couches distinctes laissant entre elles une cavité *p* qui est la cavité pleuro-péritonéale. Déjà existent les deux aortes primitives *a*, qui se trouvent dans un sillon situé entre les vertèbres primitives et les lames latérales; en haut, dans un sillon analogue, on voit le canal de Wolff, *c*.

Nous nous arrêterons ici dans cette histoire du développement de l'embryon; le point où nous sommes arrivé permet de comprendre aisément la part considérable qui revient à chaque feuillet du blastoderme dans la formation des épithéliums.

Le feuillet externe donne naissance à l'épiderme, aux ongles, aux poils, aux glandes de la peau, à l'épithélium de la muqueuse bucco-œsophagienne et aux glandes qui viennent s'ouvrir sur cette muqueuse, aux éléments nerveux et à la névroglie.

Le feuillet interne constituera l'épithélium des autres muqueuses, celui des glandes qui en dépendent, ainsi que l'épithélium pulmonaire.

Ces deux feuillets du blastoderme présentent, dès leur origine, comme nous allons le voir, les caractères spéciaux des épithéliums : ils sont composés uniquement de cellules soudées les unes aux autres. Les premiers tissus qui se montrent dans l'organisme ont donc la forme épithéliale.

Du corps de Wolff se développent les reins et les organes génitaux, avec les épithéliums qui leur appartiennent. Des vertèbres primitives et des lames latérales naissent les tissus cartilagineux, osseux, conjonctif et musculaire. Le feuillet externe de la lame latérale donne naissance aux parties périphériques du corps, les membres compris. Du feuillet interne de cette lame naissent la partie connective et musculaire de l'intestin, le cœur et la charpente du poumon. La cavité pleuro-péritonéale, située entre les deux feuillets des lames latérales, représente la première cavité séreuse, et c'est sur sa surface qu'apparaissent d'abord ces épithéliums spéciaux, connus aujourd'hui sous le nom d'endothéliums.

Définition et classification des épithéliums. — On désigne sous le nom d'épithélium ou tissu épithélial la couche cellulaire qui revêt la surface du corps et celle qui tapisse les cavités naturelles.

Les épithéliums ont été classés de diverses façons; ils ont été divisés, suivant leur siège, en épithéliums de revêtement et en épithéliums glandulaires. Mais cette distinction, qui peut être bonne dans la pratique, n'est pas fondée en morphologie; les épithéliums de revêtement sont, au fond, de même origine que les glandulaires. Remak a signalé en effet à ce sujet une loi générale sur laquelle Kölliker [1] a beaucoup insisté. Lorsqu'il naît une glande au-dessous d'une surface couverte d'épithélium, il part de la face profonde de celui-ci un bourgeon qui s'enfonce dans l'intérieur des tissus et qui est constitué par des cellules du même genre que celles de l'épithélium dont il provient. Ce bourgeon s'allonge peu à peu et pénètre jusqu'à la

1. *Kölliker*, Entwicklungsgeschichte des Menschen, 1861, p. 338 et suivantes.

profondeur où atteindra la glande. Il est d'abord plein, formé tout entier de cellules, et ce n'est que plus tard qu'il s'y produit une cavité. Les deux espèces d'épithélium dont nous venons de parler ont donc une même origine et ne forment, au point de vue du développement, qu'une seule et même espèce, quoique plus tard les fonctions des uns et des autres deviennent différentes.

Généralement, les épithéliums sont classés aussi d'après la forme des cellules qui les constituent et suivant qu'elles sont disposées en une ou plusieurs couches. C'est ainsi qu'on a distingué :

1° L'épithélium formé d'une seule couche de cellules plates, ou *endothélium*. Cet épithélium se développe surtout aux dépens du feuillet moyen et se rencontre sur les parois des cavités séreuses et des vaisseaux. Cependant, il s'en développe aussi aux dépens du feuillet interne du blastoderme. Ainsi, l'épithélium pulmonaire est un endothélium.

2° L'épithélium formé de plusieurs couches de cellules superposées ou *épithélium pavimenteux stratifié*. L'épiderme, l'épithélium de la bouche, celui du pharynx, etc., appartiennent à cette espèce.

3° L'*épithélium à cils vibratiles*. — Cet épithélium se rencontre dans la trachée et dans les grosses bronches, dans les fosses nasales, dans l'utérus et dans les trompes, etc.

4° L'*épithélium cylindrique*, qui diffère de l'épithélium pavimenteux en ce qu'il est composé de cellules molles, aplaties latéralement les unes contre les autres. La plupart des auteurs ne considèrent comme appartenant à ce groupe que les épithéliums qui ont des cellules très allongées; en réalité on doit y ranger tous ceux qui sont formés de cellules molles et prismatiques, quelle que soit du reste la hauteur de ces cellules.

Nous n'insisterons pas plus longtemps sur ces divisions. Au point de vue pratique auquel nous nous plaçons dans cet ouvrage, elles n'ont pas une grande importance.

ÉTUDE PRATIQUE DES ÉPITHÉLIUMS

Toutes les surfaces du corps, comme nous venons de le voir, sont recouvertes d'épithélium; mais, tandis que l'épiderme et les pièces cornées qui en dérivent, les ongles et les poils par exemple, présentent, au moins dans leurs couches superficielles, une grande consistance, l'épithélium des muqueuses et des séreuses se fait remarquer par sa mollesse. Sans doute, dans la pratique, c'est-à-dire dans la préparation des éléments et des tissus épithéliaux, il faut tenir compte de ces différences; mais la technique varie bien davantage suivant que l'on veut isoler les cellules épithéliales ou les étudier en place.

L'observation des cellules isolées a pour but de déterminer leur forme et le détail de leur structure. L'examen de l'ensemble du tissu permet surtout de se rendre compte de l'arrangement réciproque des cellules, de la manière

dont elles sont unies, du nombre des couches qu'elles forment, enfin de leurs rapports avec le tissu conjonctif, les vaisseaux et les nerfs.

La connaissance complète d'un épithélium ne s'obtient que par la combinaison de ces deux observations. Nous exposerons donc successivement les méthodes à suivre pour étudier les cellules isolées et pour les examiner en place et déterminer leurs rapports.

Méthodes pour isoler les cellules épithéliales. — Les cellules épithéliales peuvent être séparées les unes des autres, soit directement par des procédés mécaniques, soit à l'aide de réactifs chimiques qui, portant leur action sur les moyens d'union des cellules, facilitent leur dissociation.

Moyens mécaniques de dissociation. — Le moyen le plus simple pour se procurer des cellules épithéliales isolées consiste à racler avec un scalpel une surface couverte d'épithélium. La petite masse qui reste adhérente à la lame de l'instrument est dissociée avec les aiguilles sur une lame de verre dans une goutte d'eau. Cette méthode ne saurait être employée pour isoler les cellules de tous les épithéliums. On l'appliquerait vainement à la préparation des cellules de n'importe quelle couche de l'épiderme. Si les cellules épithéliales sont délicates, entre autres celles de l'estomac et de l'intestin, elles sont modifiées dans leur forme, non seulement par l'emploi du scalpel et des aiguilles, mais encore par l'action physique et chimique de l'eau qui les gonfle et finit par les détruire ou les rendre méconnaissables.

Un moyen analogue est employé cependant avec avantage pour l'examen des cellules de la couche superficielle de l'épithélium buccal. Il suffit par exemple de racler, avec l'ongle, la surface intérieure de la joue et de dissocier dans un peu de salive, sur une lame de verre, la petite masse qui est restée adhérente à l'ongle pour obtenir une préparation dans laquelle on peut observer un grand nombre de cellules épithéliales isolées. Ces cellules se montrent pour la plupart comme des plaques irrégulièrement polygonales, possédant un noyau ovalaire entouré d'un semis de granulations; d'autres, en moins grand nombre, paraissent fusiformes, très allongées, munies d'un noyau en forme de bâtonnet. Lorsque ces cellules sont déplacées dans la préparation, soit par une pression exercée sur la lamelle, soit par le courant produit par une goutte de liquide déposée sur l'un de ses bords, elles prennent alternativement l'une ou

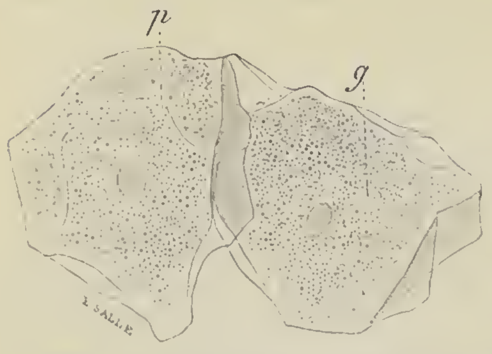


Fig. 68. — Deux cellules de l'épithélium de la paroi interne de la joue. — *p*, lignes d'empreinte; *g*, granulations. — 375 diam.

l'autre de ces deux formes, suivant qu'elles se présentent de face ou de profil. Elles sont donc, en réalité, plates, minces, et possèdent à leur centre un noyau aplati. Bien qu'elles soient très minces, elles présentent cependant sur leurs faces des saillies et des dépressions correspondant aux cellules voisines qui y marquent leur empreinte (voy. fig. 68).

Ces cellules plates peuvent être ramenées à la forme sphérique par l'action

de la potasse à 40 pour 100; elles diminuent alors de diamètre. Si l'on ajoute de l'acide acétique pour neutraliser la potasse, toute la masse de la cellule devient granuleuse, sauf une bordure claire, que l'on considère généralement comme une membrane.

Le procédé qui consiste à racler avec un scalpel la surface d'un revêtement épithélial pour en détacher des lambeaux est celui que l'on emploie d'habitude pour examiner vivantes les cellules à cils vibratiles. Cet examen se fait chez la grenouille. On ouvre la bouche de l'animal et on la tient béante; puis, avec un scalpel ou une aiguille à cataracte, on détache de l'arrière-bouche ou de la première portion de l'œsophage un petit fragment de l'épithélium. On le met sur le disque de la chambre humide dans une goutte d'humeur aqueuse ou de la solution physiologique de sel (voy. p. 60), on recouvre d'une lamelle et on borde à la paraffine.

Dans la préparation, se trouvent des rangées de cellules munies de cils vibratiles qui s'agitent et produisent dans le liquide un courant manifesté par le déplacement des débris d'éléments qui y sont contenus. Lorsque ces débris arrivent au voisinage des cils, ils sont rejetés au loin. Les groupes de cellules qui flottent dans le liquide sont déplacés par l'action des cils et tournent sur eux-mêmes; ce mouvement de rotation devient plus rapide lorsque les cils prennent un point d'appui sur une partie d'épithélium demeurée fixe. Le lendemain, on remarque qu'au centre de la préparation les cils sont immobiles, tandis que sur ses bords, au voisinage de la rigole circulaire de la chambre humide, là où ils ont de l'oxygène à leur disposition, ils sont encore en mouvement. Ce qui prouve que l'arrêt des cils est bien dû, dans ces conditions, à l'absence d'oxygène, c'est que si on soulève la lamelle de manière à faire pénétrer de l'air, on rend le mouvement à des cils qui l'avaient perdu.

Kühne[1] a déjà fait cette remarque que l'oxygène active les mouvements des cils vibratiles, tandis que l'acide carbonique et l'hydrogène les arrêtent.

Si l'on place la préparation dans la platine chauffante, les cils qui s'étaient arrêtés reprennent leurs mouvements: c'est vers 35 degrés que leur activité est au maximum; si la température continue à s'élever, les mouvements diminuent peu à peu, et à 44 degrés ils cessent tout à fait. Une fois chauffés à ce degré, rien ne rend plus leurs mouvements aux cils vibratiles; de plus, les noyaux, qui auparavant n'étaient pas visibles, apparaissent nettement dans l'intérieur des cellules.

Il est intéressant de rapprocher ces faits de l'action de la chaleur et de l'oxygène sur les mouvements amiboïdes des cellules lymphatiques; il y a une analogie à peu près complète.

Lorsque l'on essaye l'action de diverses matières colorantes sur les cellules à cils vibratiles, on remarque que celles qui ne tuent pas immédiatement les cellules, le sulfate et l'acétate de rosaniline en solution dans l'eau, le carmin neutre, etc., ne les colorent pas tant qu'elles ont des mouvements. Mais au

1. *Kühne*, Ueber den Einfluss der Gase auf die Flimmerbewegung. (*Arch. für microsc. Anatomie*, t. II, 1866, p. 372.)

moment où ils s'arrêtent, la matière colorante pénètre dans la cellule et se fixe sur le noyau qu'elle colore d'une façon intense, tandis que le corps de la cellule reste généralement plus pâle. Les propriétés vitales de ces cellules ne consistent donc pas seulement dans les mouvements de leurs cils, mais encore dans la régulation de leur nutrition. Tant qu'elles sont vivantes, elles peuvent résister à l'entrée de la matière colorante, et ce n'est qu'au moment de leur mort, indiquée par l'arrêt des cils, que cette matière peut pénétrer par diffusion dans leur intérieur.

Moyens chimiques de dissociation. — La séparation des cellules épithéliales se fait généralement avec la plus grande facilité après l'action des réactifs dissociateurs. Ces réactifs dissolvent ou ramollissent la substance qui unit les cellules et à laquelle on a donné le nom de ciment intercellulaire, en même temps qu'ils les rendent plus solides en coagulant l'albumine protoplasmique qu'elles contiennent.

Sérum iodé. — Parmi ces réactifs, le sérum iodé (voy. p. 67) est un des meilleurs pour isoler les cellules épithéliales. Les tissus doivent y être placés en tout petits fragments et y rester vingt-quatre heures en été, deux à plusieurs jours en hiver.

Si l'on veut arriver à une dissociation complète, tout en conservant leur forme aux éléments, il faut laisser les tissus plusieurs jours dans le réactif, en ayant soin d'y ajouter de temps à autre quelques gouttes de sérum fortement iodé, à mesure que la décoloration se produit par suite de la transformation de l'iode.

Le ciment intercellulaire est alors à peu près dissous, ou du moins très ramolli. En même temps, l'iode a fixé les cellules, de sorte que, tout en se séparant, elles conservent la forme que leur avait donnée l'arrangement du tissu dans lequel elles se trouvaient.

Le fragment retiré du sérum iodé est raclé sur sa surface épithéliale avec un scalpel, et le produit du raclage est porté sur une lame de verre dans une goutte de sérum. Agité avec l'extrémité d'une aiguille dans le liquide, il se divise et se dissocie. La préparation recouverte d'une lamelle présente des fragments de tissu composés de rangées de cellules, et de cellules isolées en plus ou moins grand nombre. Ces cellules, comme nous venons de le dire, possèdent la forme qu'elles avaient dans le tissu; ainsi celles qui sont détachées de l'épithélium dit cylindrique conservent une forme prismatique, en rapport avec la pression que ces éléments exercent les uns sur les autres.

Le traitement par le sérum iodé est d'une grande utilité pour la solution de plusieurs problèmes histologiques.

Relativement à l'épithélium pulmonaire, on discute encore pour savoir si le revêtement épithélial tapisse simplement la fossette intervasculaire ou s'il s'étend par-dessus les vaisseaux. Il est facile de résoudre cette question à l'aide du sérum iodé. Il suffit de placer un fragment de poumon de grenouille dans ce réactif jusqu'à ce que l'épithélium se détache facilement et de racler ensuite avec un scalpel pour obtenir de grands lambeaux de l'épithélium

pulmonaire. Ces lambeaux sont extrêmement minces; leurs bords sont souvent plissés ou retournés. En certains points de leur surface, se trouvent des groupes de noyaux entourés d'une petite masse de protoplasma granuleux, et d'où partent des plis radiés. Les cellules épithéliales du poumon de la grenouille sont donc constituées par une lame membraniforme très mince qui s'étend par-dessus les vaisseaux, tandis que les noyaux et le protoplasma des cellules occupent les fossettes intervasculaires.



Fig. 69. — Lambeau de l'épithélium pulmonaire de la grenouille, isolé après l'action du sérum iodé. — *m*, membrane formée par des plaques endothéliales; *p*, masse de protoplasma; *n*, noyau. — 500 diam.

C'est aussi au moyen du sérum iodé que l'on peut obtenir des renseignements pour la solution d'une question controversée relative aux cellules profondes de l'épiderme. En examinant des coupes de l'épiderme, Schrön [1] a remarqué, entre les cellules du corps muqueux de Malpighi, des stries perpendiculaires aux faces de ces cellules et semblant les faire communiquer ensemble comme les canaux poreux des cellules végétales. Max Schultze [2] est arrivé, à l'aide de la macération prolongée dans le sérum iodé, à isoler les cellules du corps muqueux de Malpighi, et il a vu qu'elles sont munies de piquants. L'hypothèse de Schrön devait donc être abandonnée. On verra plus loin que celle de Schultze ne correspond pas non plus à la vérité.

Lorsque l'on veut isoler les cellules du corps muqueux de Malpighi au moyen du sérum iodé, il faut d'abord placer dans quelques centimètres cubes de ce réactif de petits lambeaux de peau bien débarrassés du pannicule adipeux. Ces lambeaux, pris sur la face palmaire des doigts de l'homme, doivent être tout à fait frais et n'avoir pas plus de trois à quatre millimètres de côté. La macération dans le sérum iodé doit être poursuivie pendant trois semaines, un mois et même plus, et il faut avoir soin d'ajouter quelques gouttes de sérum fortement iodé, à mesure que le sérum se décolore. Au bout de ce temps, le corps muqueux n'est pas ramolli à un degré suffisant pour que l'on puisse en obtenir facilement les cellules en raclant simplement sa surface. Il est cependant possible d'en faire la dissociation. Pour cela, le fragment de peau est placé sur une lame de verre, et à l'aide d'un scalpel à trempe dure on y pratique des coupes perpendiculaires à la surface. Il suffit alors d'agir avec les aiguilles pour séparer complètement le revêtement épidermique du corps papillaire sous-jacent. Dans cette opération, un certain nombre de cellules du corps

1. *Schrön*, Moleschott's Untersuchungen zur Naturlehre, t. IX.

2. *Schultze*. Die Stachel- und Riffzellen der tieferen Schichten der Epidermis, dicker Pflasterepithelien und der Epithelialkrebse. *Virchow's Arch.*, t. XXX, 1864, p. 260.

muqueux sont mises en liberté. On ajoute une goutte de picrocarminate, on recouvre d'une lamelle, et l'addition d'un peu de glycérine rend la préparation persistante.

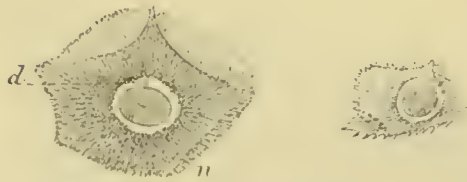


Fig. 70. — Deux cellules du corps muqueux de Malpighi, isolées après macération dans le sérum iodé. — *d*, espace compris entre le noyau et la masse cellulaire; *n*, dents de la cellule. — 880 diam.

Dans cette préparation, les cellules se présentent sous la forme de polyèdres irréguliers colorés en rouge-brun et munis sur toute leur surface de dents très variées de forme et de dimension. Au centre de la masse, il existe un noyau ovalaire, muni d'un nucléole. Tout autour de ce noyau, on aperçoit une zone claire qui indique qu'il ne remplit plus la cavité dans laquelle il était contenu. La cellule n'est donc pas liquide, puisqu'elle ne revient pas sur elle-même. Elle est au contraire solide, et le noyau est logé dans une cavité creusée au sein de sa masse.



Fig. 71. — Cellule à cils vibratiles de l'œsophage de la grenouille, après macération dans le sérum iodé. — *c*, cils vibratiles; *p*, plateau; *n*, noyau; *m*, extrémité irrégulière de la cellule. — 1100 diam.

Le sérum iodé donne aussi de bons résultats dans l'étude des cellules à cils vibratiles. Si l'on y place par exemple un fragment d'œsophage de la grenouille pendant vingt-quatre heures en été, ou pendant trois à quatre jours en hiver, en prenant les précautions indiquées plus haut pour qu'il reste toujours de l'iode en nature dans le sérum, on obtient, par le raclage, des cellules isolées d'une forme très régulière. Les cils paraissent partir d'un plateau qui limite la cellule à sa face libre et qui présente à la coupe optique deux bords ombrés, ce qui tient à son épaisseur et à sa réfringence. La substance de la cellule est granuleuse, et dans son intérieur se voit un noyau arrondi ou ovalaire. Son extrémité profonde est terminée, tantôt par une pointe, tantôt par un bord irrégulièrement échancré. Son corps présente une forme nettement prismatique, tandis que les mêmes cellules étudiées fraîches dans l'eau paraissent globuleuses.

Après l'action prolongée du sérum iodé, les cellules isolées peuvent être colorées au picrocarminate et, après addition de glycérine, fournissent des préparations persistantes où les noyaux sont colorés en rouge, tandis que le protoplasma et les cils vibratiles sont légèrement jaunes.

Pour l'étude des cellules cylindriques, le sérum iodé donne également de bons résultats. Ainsi, dans les cellules de l'intestin grêle, il fait apparaître nettement le plateau strié de leur surface libre et le prolongement plus ou moins ramifié de leur extrémité profonde. Dans le protoplasma de ces cellules se montrent des granulations graisseuses, si l'animal était en digestion.

Le sérum fortement iodé présente en outre l'avantage de déceler la pré-

sence de la matière glycogène, par la coloration brun acajou qu'il communique aux cellules qui en contiennent. Quand la quantité de matière glycogène est considérable, cette réaction est visible à l'œil nu; il se produit alors, au lieu de la couleur jaune déterminée par l'iode sur la plupart des tissus animaux, une teinte brune très marquée. Si l'on prend par exemple la trachée et le pharynx d'un embryon de mouton, et qu'après avoir fendu ces deux conduits on les plonge dans le sérum iodé, la surface de la trachée prend une teinte jaune, tandis que celle du pharynx devient brune, ce qui tient à ce que les cellules épithéliales de ce dernier contiennent de la matière glycogène.



Fig. 72. — Cellules épithéliales de l'intestin de la grenouille, isolées après l'action du sérum iodé. — *e*, plateau strié; *n*, noyau; *o*, extrémité irrégulière des cellules. (560 d.)

La muqueuse laryngienne, traitée par le sérum fortement iodé, devient jaune comme la muqueuse de la trachée, sauf au niveau des cordes vocales inférieures qui présentent la teinte brune acajou caractéristique de la présence de la matière glycogène. L'épithélium qui recouvre les cordes vocales est pavimenteux, stratifié comme dans l'œsophage, tandis qu'il est cylindrique, à cils vibratiles, dans les autres régions du larynx.

Alcool au tiers. — La dissociation des cellules épithéliales se fait aussi bien après l'action de l'alcool au tiers (voy. p. 68).

Ce réactif agit plus rapidement que le précédent; il convient surtout pour l'étude des endothéliums, des épithéliums à cils vibratiles et des épithéliums cylindriques qui ont une structure complexe; il fait voir nettement les cellules caliciformes. Il a surtout pour avantage de permettre de bien réussir les différentes colorations des cellules après qu'elles sont isolées.

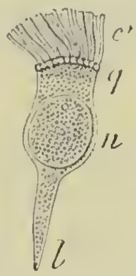


Fig. 73. — Cellule épithéliale à cils vibratiles de la trachée du cochon d'Inde (alcool au tiers, bleu d'aniline soluble). — *c'* cils; *q*, plateau strié; *n*, noyau; *l*, extrémité pointue de la cellule. — 1000 diam.

Lorsque les cellules à cils vibratiles ont été traitées par l'alcool au tiers, il est facile de les colorer. Si l'on veut en faire des préparations persistantes, le picrocarminate est le meilleur réactif colorant; mais le bleu d'aniline soluble dans l'eau fournit des préparations qui, si elles n'ont pas, comme les précédentes, l'avantage de se conserver longtemps, montrent d'une manière très remarquable certains détails de structure fort importants.

Chez un mammifère, chien, lapin, cochon d'Inde, prenons une petite portion de la trachée et laissons la macérer un jour ou deux dans l'alcool au tiers, puis, avec un scalpel, enlevons de la surface de la muqueuse trachéale une petite portion de l'épithélium pour l'agiter sur la lame de verre avec une solution de bleu d'aniline dans le mélange d'alcool et d'eau, recouvrons de la lamelle et examinons. Nous trouverons dans la préparation des cellules

dont les cils sont incolores, et dont le plateau coloré en bleu présente une striation parallèle à l'axe de la cellule. Examinons avec un fort grossissement, et nous verrons que cette striation[1] est produite par une série de grains incolores qui semblent être la continuation des cils dans l'intérieur du plateau.

Les cellules cylindriques de l'intestin, traitées par le bleu d'aniline après l'isolation par l'alcool au tiers, se comportent différemment. Leur plateau strié se colore en dernier lieu tandis que celui des cellules à cils vibratiles se colore en premier lieu. La partie qui, dans les cellules cylindriques de l'intestin, se colore d'abord et de la façon la plus intense est une couche placée immédiatement au-dessous du plateau.

Cette méthode permet aussi de bien observer les cellules caliciformes isolées. Dans l'intestin, où elles se trouvent entre des cellules à plateau, elles présentent la forme d'une coupe élégante avec des rebords renversés en dehors; leur noyau est refoulé au fond de la cavité.

On obtient de très belles cellules caliciformes, en mettant un fragment d'œsophage de grenouille dans de l'alcool au tiers pendant deux à trois jours et en colorant ensuite par le bleu d'aniline soluble. Ces cellules sont grandes et ont une ouverture rétrécie de laquelle on voit sortir un bouchon muqueux légèrement coloré en bleu (*a*, fig. 75). Cette seule observation montre que les cellules caliciformes sécrètent du mucus; ce sont, comme le dit avec raison Fr.-E. Schulze[2], des glandes muqueuses unicellulaires. Nous reviendrons sur ces cellules à propos du tissu épithélial.



Fig. 75. — Cellules de l'œsophage de la grenouille, isolées après macération dans l'alcool au tiers. — *a*, *b* et *c*, cellules caliciformes; *d* et *e*, cellules à cils vibratiles; *n*, cellule à cils vibratiles jeune, dont les cils ne sont pas encore formés. (520 d.)

Dans les préparations des cellules de l'œsophage de la grenouille faites avec



Fig. 74. — Deux cellules à cils vibratiles des fosses nasales de l'homme, isolées dans le liquide du coryza. — 750 diam.

1. Cette striation a été signalée pour la première fois par Eberth (*Zur Kenntniss des feineren Baues der Flimmerepithelien*. Virchow's Arch., vol. XXXV, 1866, p. 477) et Marchi (*Beobachtungen über Wimperepithelien*. Arch. für microsc. Anatomie, vol. II, 1866, p. 467), dans les cellules des branchies de l'anodonte (grande moule d'eau douce). Marchi a même figuré des cils allant jusqu'au noyau.

Si le plateau existe toujours dans les cellules à cils vibratiles normales, il manque par contre dans certains cas pathologiques. Ainsi dans le liquide clair du coryza, on trouve un grand nombre de cellules qui ont perdu leur plateau et dans lesquelles les cils naissent directement du protoplasma; il y a même de ces cellules où les cils partent de presque toute la surface de la cellule, et où, au lieu de présenter sur toute leur longueur le même diamètre, ils s'implantent sur le protoplasma par une base en forme de cône (fig. 74).

2. *Fr.-E. Schulze*, Epithel- und Drüsenzellen (*Arch. für microsc. Anatomie*, 1867, p. 157).

de l'alcool dilué et le bleu d'aniline, à côté des cellules caliciformes se voient des cellules à cils vibratiles dont les plans et les arêtes se présentent avec une admirable netteté. On peut y reconnaître tous les détails de forme que produit la pression des cellules les unes contre les autres. Ainsi chez quelques-unes d'entre elles, on distingue, sur une des faces, une dépression à fond arrondi représentant en creux le moule d'une cellule caliciforme voisine (*d*, fig. 75).



Fig. 76. — Cellule muqueuse de la glande sous-maxillaire du chien, isolée après l'action de l'alcool au tiers. — *c*, protoplasma refoulé au fond de la cellule et renfermant un noyau, *n*; *p*, réticulum protoplasmique.

L'alcool au tiers convient également pour faire des préparations des cellules glandulaires complètement isolées. C'est ainsi qu'un fragment de la glande sous-maxillaire du chien, placé pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans ce réactif, dissocié ensuite dans l'eau, donne, sans difficulté, des cellules muqueuses isolées. Dans ces cellules, surtout lorsqu'elles ont été colorées par le picrocarminate, on voit, de la manière la plus nette, une disposition intéressante, signalée par Lavdowsky[1], et que l'on retrouve à l'aide de la même méthode ou de méthodes analogues dans toutes les cellules muqueuses ou caliciformes, quelle que soit leur provenance. Du protoplasma qui constitue le fond et les parois de ces cellules, partent des travées protoplasmiques qui s'anastomosent et forment un réseau dans les mailles duquel le mucigène se trouve compris.

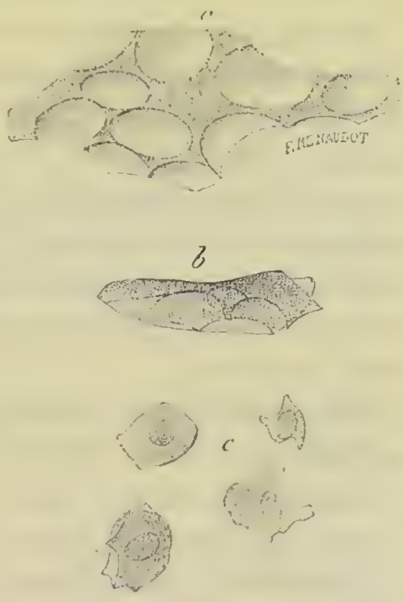


Fig. 77. — Cellules épithéliales de la vessie du cochon d'Inde, isolées après l'action de l'alcool au tiers. — *a*, cellule de la surface vue par sa face profonde; *b*, une cellule semblable vue de profil; *c*, petites cellules de la partie profonde du revêtement épithélial. — 300 diam.

On peut également, à l'aide de cette méthode, dissocier les cellules épithéliales de la face antérieure de la cornée et celles de la muqueuse vésicale. Ces dernières, isolées après l'action de l'alcool au tiers, montrent, avec une admirable netteté, les détails bien connus de leur structure. Les superficielles, larges et minces paraissent creusées, au niveau de leur face profonde, de dépressions arrondies séparées par des crêtes plus ou moins saillantes, ainsi qu'on en juge sur les vues de face ou de profil de ces cellules (fig. 77, *a* et *b*). Dans ces dépressions sont logées les cellules sous-jacentes dont les dimensions sont plus petites et dont la forme est irrégulièrement globuleuse (*c*, fig. 77).

Les cellules de la face antérieure de la cornée se montrent sous des aspects

1. *Lavdowsky*, Zur feineren Anat. u. Phys. des Speicheldrüsen (*Arch. f. mikr Anat*. t. XIII, p. 281).

divers, qui ont été décrits par Lott[1]. Les plus profondes présentent sur une de leurs faces une petite plaque transparente, vitreuse, ou bien elles possèdent un prolongement qui porte à son extrémité une plaque semblable. C'est ce que l'auteur a désigné sous le nom de « cellules à pied » (*Fusszellen*). Quelques-unes de ces cellules sont semblables, sauf en ce qui concerne leur grandeur qui est beaucoup moindre, à celles des couches superficielles de la vessie, c'est-à-dire qu'elles sont munies de dépressions dans lesquelles sont logées les cellules sous-jacentes; une des crêtes donne souvent naissance à un prolongement qui se termine par une plaque.

Acide chromique. — L'acide chromique, dans la proportion de 1 pour 10 000 à 2 pour 10 000, et le bichromate de potasse, à la dose de 1 pour 1000 à 2 pour 1000, sont aussi de bons réactifs dissociateurs des épithéliums. Mais il est indispensable, surtout en été, d'ajouter environ 20 à 30 gouttes d'une solution d'acide phénique à 1 pour 100 pour 30 gr. de liquide, afin de prévenir le développement des bactéries.

Potasse. — Pour isoler les cellules de la couche cornée de l'épiderme, la potasse à 40 pour 100 est un fort bon réactif; elle dissout le ciment sans détruire les cellules, qu'elle ramène à la forme sphérique. Dans des proportions plus faibles, elle liquéfie tout le tissu.

La solution de potasse à 40 pour 100 peut aussi être employée pour la dissociation des poils et des ongles ; mais elle agit lentement.

Acide sulfurique. — Si l'on veut obtenir une dissociation rapide des éléments cornés, il faut employer l'acide sulfurique ordinaire. L'objet à dissocier est placé sur la lame de verre avec une goutte d'acide sulfurique, recouvert d'une lamelle, et chauffé légèrement au-dessus d'une flamme. Le ciment intercellulaire est ramolli, et il suffit ensuite d'appuyer doucement avec une aiguille sur la lamelle pour que les cellules se séparent les unes des autres.

Méthodes pour étudier les cellules épithéliales en place et le tissu épithélial. — Pour étudier les cellules épithéliales en place et reconnaître leur agencement, on emploie l'imprégnation d'argent et les coupes.

Imprégnation d'argent. — L'imprégnation peut se faire de deux façons : par injection, par aspersion ou immersion (voy. Méthodes générales, p. 95).

Les injections se font, soit avec une solution de nitrate d'argent dans de l'eau distillée, soit avec un mélange de nitrate d'argent en solution et de gélatine. Nous reviendrons sur la manière d'appliquer ces procédés lorsque nous parlerons de la préparation des vaisseaux.

L'arrosage des surfaces épithéliales libres se fait avec une solution à 1 pour 300 ou 1 pour 500. Les surfaces à imprégner doivent être bien tendues et arrosées d'abord d'eau distillée pour qu'il n'y reste aucun corps étranger ; on y laisse ensuite tomber goutte à goutte la solution d'argent. Quand on pratique l'immersion, il faut avoir soin d'agiter constamment le

1. *Lott*, Ueber den feineren Bau und die physiologische Regeneration der Epithelien. (*Untersuchungen aus dem Institute für Physiologie und Histologie in Graz, herausg.*, von *Rollet*, 1873, p. 266.)

tissu dans le bain d'argent où il est plongé, autrement il se forme à sa surface un dépôt de chlorure et d'albuminate d'argent qui y reste adhérent et qui produit des images trompeuses. Lorsque la surface du tissu commence à prendre une teinte louche, l'imprégnation est produite. La membrane est alors plongée dans l'eau distillée pour la bien laver; mais il ne faut pas l'y laisser longtemps, car le ciment qui réunit le stroma connectif aux cellules n'est pas toujours solidifié, et celles-ci pourraient être détachées. La membrane placée sur une lame de verre peut être étudiée dans l'eau; mais pour la conserver, il faut la monter dans la glycérine. On peut aussi conserver la préparation à sec (Schweigger-Seidel); à cet effet, la membrane est tendue sur une lame de verre, de manière que l'épithélium imprégné soit en contact avec le verre, puis elle est abandonnée à l'air. Avant que la dessiccation soit tout à fait complète, la membrane est enlevée avec une pince; les cellules de l'épithélium restent adhérentes à la lame de verre avec leur ciment intercellulaire imprégné. Il suffit de la recouvrir d'une lamelle que l'on borde à la paraffine pour obtenir une préparation durable.

On peut aussi monter dans le baume du Canada ou la résine dammare une membrane imprégnée d'argent. L'ayant tendue sur une lame de verre par le procédé de la demi-dessiccation, on l'arrose d'alcool ordinaire, puis d'alcool absolu. Une goutte d'essence de girofle ou d'essence de térébenthine la rend transparente, et il ne reste plus qu'à ajouter du baume et à recouvrir d'une lamelle pour terminer la préparation.

Quelle que soit la méthode que l'on ait employée pour imprégner d'argent un revêtement épithélial, les cellules qui le composent paraissent séparées les unes des autres par des lignes colorées en brun plus ou moins foncé. Si le tissu imprégné d'argent est traité ensuite par le chlorure d'or[1] à 1 pour 10 000, ces lignes prennent une belle teinte violette.

Les imprégnations d'argent, faites suivant les procédés que nous venons de décrire, réussissent également bien sur les endothéliums[2] et sur les épithéliums. Nous étudierons successivement les faits qu'elles permettent de constater sur l'un et l'autre de ces groupes de tissus.

Une séreuse à surface continue, le mésentère, par exemple, traitée par le nitrate d'argent, donne des images régulières et d'une grande netteté. Chaque cellule du revêtement endothélial est séparée de ses voisines par des

1. *Journal de l'anatomie et de la physiologie*, 1868, p. 216.

2. Le mot endothélium a été créé par His pour désigner les épithéliums qui se développent aux dépens du feuillet moyen. Comme la plupart de ces épithéliums sont formés d'une seule couche de cellules plates, His a cru pouvoir désigner sous ce nom une espèce particulière d'épithéliums, tant au point de vue embryologique qu'au point de vue morphologique. Mais tous les épithéliums formés d'une seule couche de cellules plates ne proviennent pas du feuillet moyen; ainsi l'épithélium pulmonaire, qui est construit sur ce type, provient du feuillet interne. La théorie de His n'a donc pas une portée générale, et le mot qu'il a créé ne peut être appliqué dans le sens qu'il lui a donné. Nous le conserverons avec la signification qu'il a prise aujourd'hui dans le langage des histologistes, et nous appellerons endothélium tout épithélium formé d'une seule couche de cellules plates, quelle que soit son origine.

traits noirs formés par le dépôt d'argent (fig. 78). Pour rendre apparents les noyaux de ces cellules, il suffit généralement de colorer la membrane imprégnée d'argent par le picrocarminate ou l'hématoxyline nouvelle; lorsque l'on a employé une solution de nitrate d'argent trop forte ou lorsqu'on la fait agir trop longtemps, la coloration des noyaux ne se produit pas, parce que ces noyaux et le protoplasma qui les entoure ont pris, sous l'influence du nitrate d'argent, une nouvelle constitution chimique; ils ont subi une sorte de métallisation qui empêche la pénétration et l'action des matières colorantes.

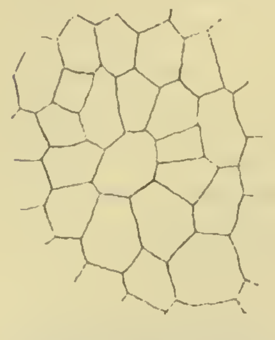


Fig. 78. — Endothélium du mésentère de la tortue mauresque, imprégné d'argent. — 255 diam.

Le grand épiploon des mammifères ne forme pas une membrane continue. Ses feuillets, dans un grand nombre d'espèces : le chien, le rat, le cochon d'Inde, par exemple, présentent un si grand nombre d'ouvertures ou de trous que la membrane tout entière peut être comparée à un filet. Elle est réticulée. Toutes les travées de ce réticulum sont complètement entourées de cellules endothéliales dont la limite est parfaitement nette après l'action du nitrate d'argent (fig. 79).

Parmi ces travées il y en a de si minces

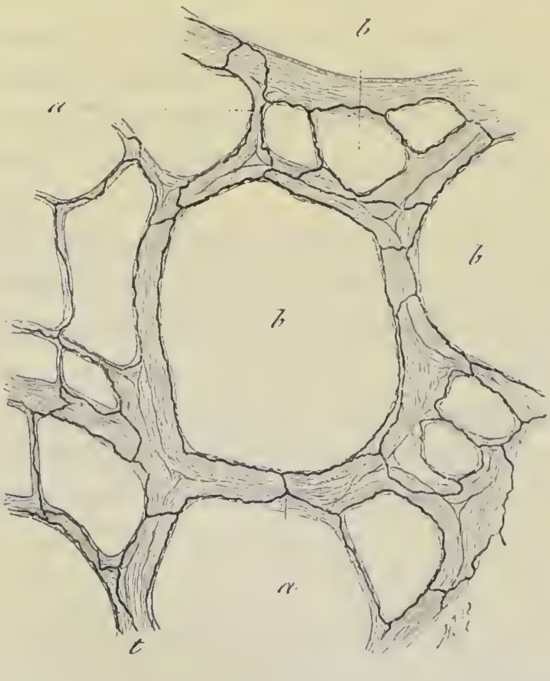


Fig. 79. — Grand épiploon du chien adulte, imprégné d'argent. — *a*, interlignes cellulaires imprégnés d'argent; *b*, mailles; *t*, travées connectives. — 300 diam.

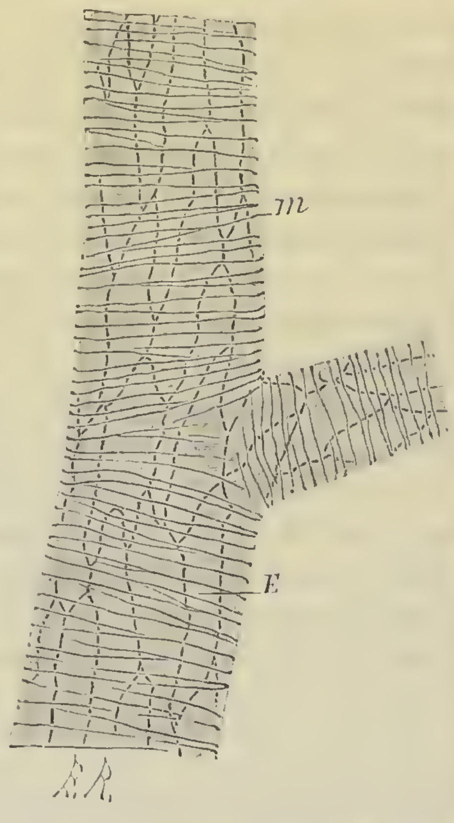


Fig. 80. — Artérioles de l'intestin du lapin, imprégnées d'argent par injection. — *E*, cellules endothéliales de la face interne; *m*, tunique musculaire. — 200 diam.

qu'une cellule endothéliale suffit pour les envelopper complètement. Cette cellule se soude à elle-même pour former un tube dans lequel la travée épiploïque est comprise. La ligne de soudure se voit après l'impré-

gnation d'argent comme un trait noir qui parcourt la travée suivant sa longueur

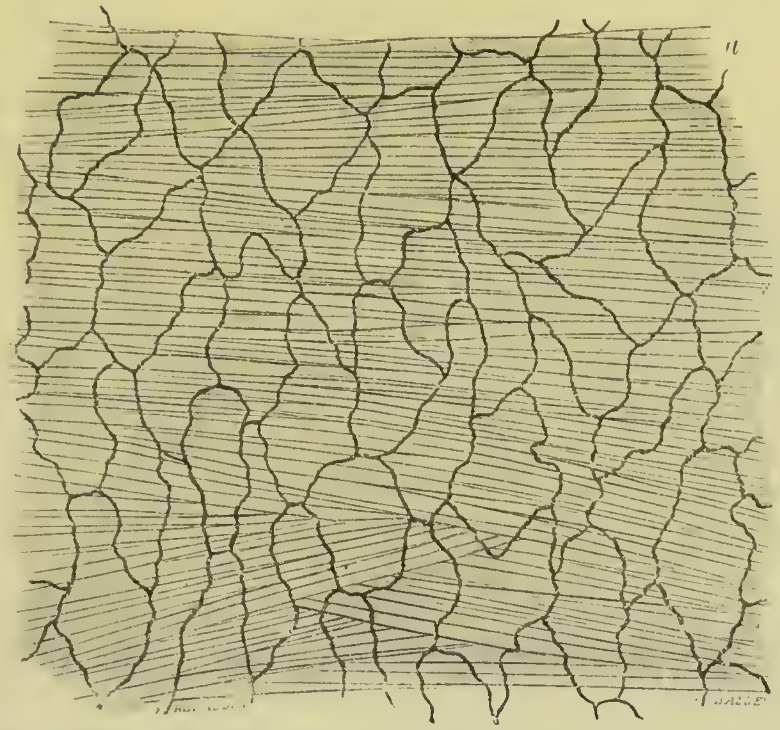


Fig. 81. — Veine jugulaire du lapin, imprégnée d'argent par injection limitée. Dessiccation. Éclaircissement dans l'essence de girofle. Baume du Canada. — *a*, ligne de séparation des cellules endothéliales, marquée par le dépôt d'argent; *m*, fibres musculaires lisses dont les limites sont dessinées par le dépôt d'argent. — 250 diam.

Sur la face interne du cœur, les cellules endothéliales sont polygonales; dans les artères, et à mesure que celles-ci diminuent de calibre, elles s'allongent et deviennent de moins en moins larges. Dans les capillaires, elles sont très longues et très étroites. Elles s'élargissent de nouveau dans les veines (fig. 81).

Dans les capillaires lymphatiques, elles sont échancrées sur leurs bords et présentent des dents mousses qui s'engrènent les unes dans les autres (fig. 82).



Fig. 82. — Endothélium des capillaires lymphatiques, imprégné d'argent, dans l'intestin du lapin. — 200 diam.

Pour l'étude de l'endothélium pulmonaire, l'objet le plus favorable est le poumon de la tortue, parce que l'imprégnation peut y être faite directement comme s'il s'agissait d'une séreuse. En effet, lorsque l'on a divisé à l'aide de la scie les deux lames de la carapace qui attachent le sternum, celui-ci est facilement enlevé, en se servant d'un scalpel pour détacher les parties molles. Cette première partie

de l'opération étant terminée, le poumon qui a été divisé par l'incision apparaît dans la cavité thoracique sous la forme d'une membrane réticulée adhérente à la face interne de la pièce dorsale de la carapace. Il se présente ainsi par sa face interne qui peut être directement soumise à l'action de la solution de nitrate d'argent. Lorsque l'imprégnation est produite, on lave à l'eau distillée, on circonscrit avec un scalpel de petites portions de la lame pulmonaire; celles-ci sont alors détachées et conservées comme s'il s'agissait d'une membrane séreuse.

Chez la grenouille, il faut, pour imprégner le poumon, commencer par ouvrir largement la cavité abdominale, puis, avec une pipette introduite dans la glotte, on projette une solution de nitrate d'argent à 1 pour 300 dans les sacs pulmonaire; ceux-ci se gonflent et viennent faire saillie hors de la cavité abdominale. On les expose à la lumière et, quand la teinte brune s'est produite, ils sont ouverts sous l'eau distillée; avec des ciseaux, on en coupe de petits fragments dans lesquels se distinguent les cellules endothéliales séparées par des traits d'imprégnation.

Une variante de ce procédé, qui donne aussi de bons résultats, consiste à faire ressortir le liquide introduit dans le poumon, en pressant légèrement sur ce dernier, après que l'imprégnation est produite. Le poumon est ensuite gonflé par insufflation et ligaturé à sa base. On le coupe en deçà de la ligature, et il est mis à sécher dans un endroit chaud. Lorsqu'il est sec, on le divise avec des ciseaux en petits fragments que l'on dépose sur la lame dans une goutte d'essence de girofle, puis on y ajoute du baume du Canada pour en faire une préparation persistante.

Chez le lapin et chez le chat (le jeune chat convient très bien) on ouvre la cage thoracique. L'animal asphyxie. On injecte alors dans la trachée une solution de nitrate d'argent à 1 pour 300. Le poumon devient opalescent, puis noirâtre, s'il est exposé à la lumière solaire; on en prend de petits morceaux qui, placés d'abord dans l'eau distillée, puis dans l'alcool absolu, deviennent assez durs pour qu'on puisse en faire des coupes. On peut aussi, avant d'y faire des coupes, l'insuffler et le faire sécher comme le poumon de la grenouille.

Le poumon de tous les animaux dont nous venons de parler présente un endothélium construit sur le même type. Les cellules qui le constituent ont pour caractère de présenter un noyau situé, non pas à leur centre, mais vers un de leurs bords ou de leurs angles. Cette disposition peut être observée aussi bien dans les préparations faites par imprégnation d'argent que dans celles que l'on obtient par dissociation (fig. 69). On a vu déjà que, dans des lambeaux de l'endothélium pulmonaire, détachés après l'action du sérum iodé, les noyaux de cet endothélium sont compris dans une masse de protoplasma granuleux. Dans les préparations à l'argent, lorsque l'imprégnation est forte, outre la limite des larges plaques endothéliales, marquée par une ligne noire, on distingue d'autres lignes noires situées dans un plan plus profond et formant autour des noyaux des circonférences plus ou moins régulières; ces lignes marquent la limite des masses de protoplasma périnucléaires.

Les épithéliums proprement dits peuvent aussi s'imprégner par le nitrate d'argent. Cependant cette méthode ne donne aucun résultat avantageux dans l'étude de l'épiderme et des épithéliums analogues, l'épithélium buccal, par exemple.

Pour imprégner un épithélium, celui de l'intestin grêle, entre autres, voici comment il faut procéder : un fragment d'intestin, pris sur un chat ou un chien que l'on vient de tuer, et par conséquent tout à fait frais, est agité dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 : il y devient rapidement opalin. Lorsque la muqueuse a pris une teinte blanchâtre, l'imprégnation de l'épithélium est produite. Le fragment d'intestin est agité dans l'eau distillée où on le laisse quelques minutes. En raclant la muqueuse avec un scalpel, on obtient des lambeaux d'épithélium de diverses grandeurs, que l'on monte en préparations dans la glycérine. On y voit au microscope le revêtement épithélial des villosités, formé de cellules cylindriques qui, vues de face, apparaissent sous la forme de champs polygonaux séparés par des traits d'imprégnation; de distance en distance, se présente sur ce revêtement une ouverture arrondie (*a*, fig. 85), entourée d'un anneau diffus, *b*. Cet anneau devient plus net lorsqu'on abaisse légèrement l'objectif, ce qui prouve que la partie qui donne cette image est située plus profondément.



Fig. 85. — Revêtement épithélial des villosités de l'intestin du chien. Lambeau détaché et vu de face. — *c*, cellules cylindriques vues par leurs faces libres; *b*, cellules caliciformes; *a*, ouverture de ces cellules sur la face libre de la villosité. — 400 diam.

Dans la même préparation, il est facile de trouver des fragments d'épithélium qui, au lieu de se présenter de face, sont vus de profil et permettent d'examiner le tissu dans son épaisseur, comme on pourrait le faire dans une coupe. Ces fragments montrent des rangées de cellules à plateau. De distance en distance, ces rangées se trouvent interrompues par une cellule en forme de coupe, rétrécie à son col qui se trouve au niveau du plateau des autres cellules, élargie à son milieu et se terminant en bas par une extrémité analogue à celle des cellules cylindriques.

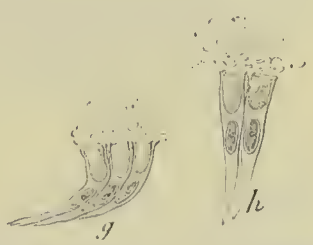


Fig. 84. — Cellules caliciformes de l'estomac de la grenouille, isolées après macération dans l'alcool au tiers. — *h*, cellules droites; *g*, cellules couchées sur les parties latérales des papilles de l'estomac. De l'ouverture de ces cellules se dégage du mucus. — 520 diam.

Les cellules caliciformes paraissent composer à elles seules tout le revêtement de la muqueuse de l'estomac, comme l'a montré F.-E. Schulze[1]. Elles sont étroitement serrées les unes contre les autres; leur produit de sécrétion forme une couche continue qui soustrait les cellules épithéliales elles-mêmes ainsi que les tissus qu'elles revêtent, à l'action du suc gastrique.

1. *F.-E. Schulze*. Epithel- und Drüsenzellen, *Arch. für microsc. Anatomie*, t. III, 1867, p. 157.

Méthodes de durcissement et coupes. — *Alcool.* — La méthode la plus expéditive et la meilleure, dans la majorité des cas, pour obtenir le durcissement d'une muqueuse recouverte d'épithélium ou d'une glande repose sur l'emploi de l'alcool. Les fragments du tissu que l'on veut faire durcir doivent être très petits, afin que l'alcool puisse rapidement les atteindre dans toute leur épaisseur. En outre, pour que la coupe que l'on va pratiquer dans l'organe durci soit orientée dans un sens bien déterminé dans toutes ses parties, il est indispensable, s'il s'agit d'une membrane, de lui donner, avant de la plonger dans le réactif, une extension convenable. Cette extension peut être obtenue à l'aide de deux procédés. Le premier consiste à étaler et à fixer avec des épingles, sur un fragment de moelle de sureau ou sur une plaque de liège, une petite portion de la membrane. Le second s'applique à des cavités d'une petite étendue, par exemple l'estomac de la grenouille ou l'intestin d'un petit animal. Cette cavité est remplie d'alcool au moyen d'une pipette, après avoir placé les ligatures nécessaires. Une dernière ligature est appliquée au-dessous du bec de la pipette, lorsque l'organe est convenablement distendu; celui-ci est alors enlevé, plongé dans l'alcool, et généralement au bout d'une heure, sa consistance est assez grande pour qu'il soit facile d'y pratiquer des coupes. A mesure qu'elles sont détachées, ces coupes sont déposées dans de l'alcool ordinaire; on les y reprend sur la lame de verre; on y ajoute une goutte de la solution de picrocarminate à 1 pour 100. Au bout d'une minute, on les recouvre d'une lamelle, et la glycérine est substituée au picrocarminate. La même méthode, sauf en ce qui concerne l'extension, peut être avantageusement employée pour l'étude histologique de toutes les glandes. Elle convient principalement pour celles qui contiennent des cellules muqueuses: la sous-maxillaire, la sublinguale, les glandes de la base de la langue, du pharynx, du larynx, etc.



Fig. 85. — Estomac de la grenouille verte. Coupe transversale après durcissement par injection d'alcool absolu: coloration au picrocarminate. Cellules caliciformes de la surface. — *a. m.* cellules caliciformes à l'embouchure des glandes; *g.* épithélium glandulaire; V. vaisseau sanguin; *l* et *l'*, muscles lisses de la muqueuse, coupés en long et en travers. — 250 diam.

Tous les détails que nous avons indiqués dans les cellules de l'estomac et de l'intestin étudiées au moyen de l'imprégnation d'argent peuvent être observés dans les coupes faites après durcissement par l'alcool et convenablement colorées. Les cellules caliciformes de l'estomac et de l'intestin s'y montreront d'une manière d'autant plus nette que l'eau n'aura pas été employée pour faire la préparation, car le mucus qui remplit ces cellules, même quand il a été saisi par l'alcool, se gonfle quand elles sont placées dans de l'eau pure ; c'est pour cela que nous avons conseillé de transporter directement les coupes de l'alcool ordinaire dans le picrocarminate. Le léger excès d'acide picrique qui reste dans le liquide additionnel détermine une élection du carmin de plus en plus nette, de telle sorte que les préparations deviennent encore meilleures au bout de quelques jours.

Congélation. — La congélation est un procédé simple pour donner aux tissus une fermeté suffisante pour y faire des coupes ; il est surtout utile pour la préparation des épithéliums glandulaires. Nous avons donné avec détails la manière de s'y prendre (voy. p. 71).

Dessiccation. — La dessiccation est un des procédés de durcissement les plus anciennement usités. On l'emploie surtout pour faire des coupes d'artères et de peau. Nous venons de voir qu'il se combine avantageusement avec le procédé de l'imprégnation à l'argent dans l'étude des endothéliums (voy. p. 204).

Pour préparer la peau par ce procédé, il faut d'abord enlever avec soin tout le pannicule adipeux sous-dermique ; autrement, à mesure que l'eau s'évapore, la graisse diffuse dans le tissu et empêche d'obtenir de bonnes préparations. La peau est ensuite étendue sur une lame de liège, de façon que sa face profonde soit exposée à l'air. On la fixe avec des épingles, qu'il faut avoir soin de planter obliquement en dehors ; autrement, la peau revenant sur elle-même, elles seraient arrachées. La dessiccation doit se faire dans un lieu sec et chaud ; elle doit être rapide afin d'éviter la putréfaction.

Pour y faire des coupes, on insère la peau desséchée dans un bouchon de liège où l'on a préalablement tracé une fente avec une scie. Le morceau de peau est glissé dans cette fente et s'y trouve solidement fixé lorsqu'on serre le bouchon avec les doigts. Il faut employer un rasoir à tranchant résistant, et avoir soin de faire les coupes extrêmement minces, parce qu'elles seront gonflées par l'eau ou par le liquide dans lequel on les examinera, ce qui augmentera d'autant leur épaisseur.

Déposées d'abord sur du papier, elles sont portées ensuite sur une lame de verre dans une goutte de carmin ammoniacal. Elles s'y gonflent et la matière colorante les pénètre rapidement. En une ou deux minutes, elles sont suffisamment colorées. On les met alors dans l'eau pour enlever l'excès de carmin, on les reprend sur la lame de verre, on y ajoute de la glycérine additionnée d'acide formique, on recouvre de la lamelle, et la préparation peut être examinée. Pour la rendre persistante, il suffit de la border. C'est là un procédé ancien qui convient seulement pour observer l'ensemble et les rapports du derme et de l'épiderme.

On emploiera avec avantage une modification de ce procédé, que nous

allons décrire maintenant : les coupes de peau desséchée sont d'abord portées dans l'eau. Quand elles sont gonflées, on les met sur la lame de verre dans une goutte de picrocarminate. La coloration est produite au bout d'une minute; mais le séjour de la préparation dans le réactif peut être prolongé sans inconvénient. On recouvre d'une lamelle; puis une goutte de glycérine mise sur l'un de ses bords s'introduit peu à peu et rend la préparation persistante, en même temps qu'elle l'éclaircit en ne laissant bien visibles que les parties colorées. Les noyaux des cellules du corps muqueux de Malpighi sont colorés en rouge. Les cellules, qui présentent une teinte brune, ont des contours très nets, marqués par des stries qui correspondent aux dentelures dont nous avons déjà parlé (voy. p. 196). La couche cornée est colorée en jaune par l'acide picrique. Elle est séparée du corps muqueux de Malpighi par une couche de cellules aplaties, granuleuses, colorées en rouge brun, possédant des noyaux atrophiés, et qui correspond à ce que l'on a appelé le *stratum granulosum*.

La dessiccation était également appliquée, par les anciens histologistes, à la préparation des membranes recouvertes d'épithéliums mous; mais elle a été abandonnée, parce qu'elle déforme les cellules épithéliales et même les rend méconnaissables.

Acide chromique. — L'acide chromique peut être employé pour durcir les épithéliums de revêtement et les épithéliums glandulaires, en solution à 1 et à 2 pour 1000. Les fragments de tissus doivent être petits (5 millimètres à 1 centimètre de côté) et la quantité de liquide relativement considérable (250 à 1000 grammes). Le durcissement est produit au bout de dix à vingt jours. On doit le compléter en mettant la pièce dans l'alcool, après l'avoir fait dégorger dans l'eau, surtout si, comme il arrive pour la peau, elle contient des tissus de consistance différente. Les coupes du tissu épithélial durci par l'acide chromique se colorent mal par le carmin et l'élection de cette matière colorante ne se produit plus sur les noyaux des cellules.

Bichromate de potasse et d'ammoniaque. — Les solutions de bichromate de potasse et de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 doivent être préférées à la solution d'acide chromique pour durcir le tissu épithélial, bien qu'elles agissent très lentement. Il n'est pas toujours nécessaire d'attendre le durcissement complet qui exige plusieurs mois et même une année entière; lorsque la pièce a séjourné quelques semaines dans la solution, on la met à dégorger dans l'eau pendant un jour, et on complète le durcissement par l'action successive de la gomme et de l'alcool (voy. Méthodes générales, p. 78).

Les bichromates alcalins, comme l'acide chromique, en faisant subir aux tissus une sorte de tannage, empêchent le carmin de les bien colorer. Ce réactif n'agit plus sur eux que faiblement, et il ne colore plus du tout les noyaux; mais on peut faire qu'il reprenne sur eux son action élective. Pour cela, il faut placer les coupes faites après durcissement dans le bichromate d'ammoniaque la gomme et l'alcool, pendant vingt-quatre heures dans l'eau pour enlever la gomme, puis les porter pendant vingt-quatre

heures dans un mélange d'alcool et d'acide formique à parties égales, les remettre dans l'eau pendant quelques minutes et les laisser ensuite pendant une heure ou deux dans une solution de picrocarminate au centième.

Cette méthode un peu compliquée m'a donné de très belles préparations des cellules épithéliales glandulaires et des cellules épithéliales musculaires des glandes sudoripares de l'homme.

Les coupes des glandes (glandes de la peau, glandes salivaires, glandes de la muqueuse gastrique, etc.), durcies par le bichromate d'ammoniaque se colorent très bien par l'hématoxyline nouvelle ou par l'hématoxyline et l'éosine que l'on fait agir successivement. Montées dans la résine dammare, elles donnent des préparations belles et démonstratives. Le protoplasma des cellules glandulaires est coloré en rose, leur noyau en violet. Le mucigène des cellules muqueuses ou caliciformes est incolore; les cloisons ou les travées protoplasmiques qui le sillonnent sont colorées en rose.

En préparant de la même façon les glandes sébacées de la peau de l'homme, surtout les grosses glandes sébacées de la face, on obtient des préparations extrêmement remarquables. Les gouttelettes de sébum qui se forment peu à peu dans les cellules sont incolores, comme le mucigène des cellules muqueuses, tandis que le protoplasma dans lequel elles sont comprises est coloré en rose et, bien qu'il constitue comme une sorte de mastic dans lequel les gouttes de sébum sont englobées, il a, sur les coupes réelles ou sur les coupes optiques, l'apparence d'un réseau. Au fur et à mesure que les cellules sébacées, nées sur la face interne de la membrane de la glande, s'avancent, par suite de leur évolution glandulaire, vers le centre de l'acinus, les gouttes de sébum deviennent plus nombreuses et plus grosses.

Les noyaux des cellules sébacées occupent le centre de ces cellules au lieu d'être refoulés à la périphérie comme dans les cellules muqueuses; l'hématoxyline les colore en bleu violacé; ils sont sphériques d'abord, mais à mesure que les gouttes de graisse, en s'accumulant, les compriment, ils deviennent anguleux, s'atrophient, se fragmentent et finissent par disparaître. Lorsqu'ils ont disparu, la cellule meurt, se désagrège pour former le sébum.

Cette évolution cellulaire si simple qui constitue le mécanisme intime de la sécrétion des glandes sébacées peut être admirablement suivie dans ces préparations.

La même méthode, appliquée à l'épiderme, fournit des préparations dans lesquelles on observe aisément la structure fibreuse des cellules du corps muqueux de Malpighi que j'ai fait connaître il y a quelques années seulement [1] et dont, par conséquent, il n'a pas été question dans la première édition de cet ouvrage.

Les épines ou piquants que l'on observe sur les cellules du corps muqueux de Malpighi, isolées après macération dans le sérum iodé (voy. p. 195), correspondent en réalité, ainsi qu'on peut facilement le reconnaître dans les coupes faites suivant la méthode que je viens d'indiquer, à des filaments, à

1. Sur la structure des cellules du corps muqueux de Malpighi. (*Comptes rendus. Académie des Sciences*, 1882.)

des sortes de ponts qui s'étendent sans aucune espèce d'interruption d'une cellule à ses voisines. C'est pour cela que je les ai désignés sous le nom de filaments d'union. Si, avec un excellent objectif à immersion, on cherche à suivre ces filaments pour savoir d'où ils viennent et où ils vont, on reconnaît qu'ils sont une dépendance de tout un système de fibres qui fait partie des cellules elles-mêmes : en deux mots, les cellules du corps muqueux de Malpighi ont une structure fibreuse ou filamenteuse (fig. 86).



Fig. 86. — Coupe perpendiculaire à la surface de l'épiderme de la plante du pied de l'homme, faite après durcissement des tissus par l'action successive du bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, de la gomme et de l'alcool, conservée dans l'eau phéniquée.

La structure fibreuse des cellules du corps muqueux de Malpighi, ainsi que la disposition et les rapports de leurs filaments d'union sont observés également d'une manière très nette dans des coupes du corps muqueux de Malpighi, faites, comme celles dont il vient d'être question, perpendiculairement à la surface de la peau durcie par le bichromate d'ammoniaque, la gomme et l'alcool, examinées et conservées dans l'eau phéniquée (eau distillée 100, acide phénique 1).

Acide osmique. — L'acide osmique est un réactif précieux, indispensable même pour bien étudier les épithéliums. Son importance deviendra plus grande encore parce que, bien employé, il est un fixateur des cellules d'une délicatesse et d'une puissance vraiment surprenantes. Pour en bien saisir la technique, on doit se rappeler que l'eau déforme les éléments délicats avec une rapidité assez grande et savoir que l'acide osmique fixe les éléments anatomiques en se réduisant ; de telle sorte qu'un fragment de tissu, placé dans une petite quantité d'acide osmique à 1 pour 100, peut, en quelques heures décomposer complètement cet acide. L'eau de la solution en est alors complètement privée. A moins que ce fragment de tissu ne soit extrêmement petit, quand on vient à le fendre avec un scalpel, on remarque que son centre est resté incolore et par conséquent n'a pas subi l'action du réactif : il a été atteint seulement par l'eau de la solution, parce que celle-ci a abandonné son osmium en traversant les couches superficielles de la pièce. On conçoit que, si au lieu de fendre le fragment de tissu on l'avait immergé dans une nouvelle solution d'acide osmique, celle-ci aurait fini par atteindre le centre, mais aurait fixé des éléments déformés.

Pour éviter l'action de l'eau, on peut dissoudre l'acide osmique dans la solution physiologique de sel, à 7 pour 1000, ou bien mettre dans la solution d'acide osmique, dans de l'eau ordinaire, de très petits fragments d'organes, ayant 1 à 2 millimètres de côté. On peut encore le faire agir en vapeurs (voy. p. 76), le fragment de tissu étant exposé à ces vapeurs dans son propre plasma ou dans un liquide indifférent, sérum du sang, humeur aqueuse, solution physiologique de sel.

Si les cellules épithéliales contiennent de la graisse sous forme de granulations, elle est colorée en brun intense. En dehors des états pathologiques, on trouve des granulations graisseuses dans les cellules sébacées, dans les cellules du tube sécréteur des glandes sudoripares et dans les cellules hépatiques.

Un petit fragment de la glande sous-maxillaire du lapin, ayant 2 millimètres de côté environ et que l'on a laissé séjourner douze heures dans deux ou trois centimètres cubes d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, fournit des coupes qui, examinées dans l'eau ou dans la glycérine, montrent les acini de la glande formés de cellules granuleuses, les canaux excréteurs tapissés d'une seule rangée de cellules cylindriques parcourues par des stries longitudinales parallèles à leur grand axe, s'étendant de leur base à leur noyau, et au col de chaque acinus des cellules infiltrées d'une substance colorée en brun plus ou moins foncé. Nussbaum [1], qui a observé ce fait intéressant, a soutenu que la substance qui se colorait en brun dans les cellules en question n'était autre chose que le ferment diastasique. Ayant alors étendu ses recherches, il a trouvé des cellules analogues dans les différentes glandes qui sécrètent des ferments. Cela l'a conduit à considérer l'acide osmique comme le réactif des cellules glandulaires à fonction zymotique. C'est ainsi que dans le pancréas, glande à ferment par excellence, les cellules des acini contiennent des granulations arrondies d'une substance qui se colore en brun sous l'influence de l'acide osmique, sans que cette coloration atteigne jamais l'intensité de noir que l'on observe dans les granulations graisseuses imprégnées d'osmium. Du reste, ces granulations ne se dissolvent ni dans l'alcool absolu, ni dans l'éther.

Nous admettrions bien volontiers la théorie de Nussbaum, si elle était soutenue par l'expérimentation physiologique; mais malheureusement, il n'en est rien. La salive sous-maxillaire du lapin ne transforme pas l'amidon en sucre ainsi que Heidenhain l'a fait remarquer. J'ajouterai même à ce sujet que j'ai repris ces expériences en leur donnant toute la précision de la méthode comparative. Ayant placé un tube dans le canal de la sous-maxillaire du lapin, j'ai excité ensuite les nerfs glandulaires de manière à obtenir plusieurs centimètres cubes de salive. Cette salive ne transformait pas l'amidon en sucre et cependant, c'est là le point important de notre expérience; il y avait au col des acini de la glande qui avait fourni cette salive, ainsi que dans la glande similaire qui n'avait pas été excitée, des cellules se colorant en brun par l'acide osmique.

1. *Nussbaum*, Ueber den Bau und die Thätigkeit der Drüsen. (*Arch. f. micr. Anat.*, t. XIII, p. 721.)

Les éléments qui ont été fixés par l'acide osmique et qui contiennent de la matière glycogène présentent, quand on les traite par le sérum fortement iodé[1] ou par la solution d'iode iodurée, la réaction caractéristique; ils se colorent en brun acajou, tandis que ceux qui ne renferment pas de cette substance prennent, sous l'influence de l'iode, une coloration jaune. C'est là une réaction très intéressante, parce qu'elle permet, non seulement de retrouver la matière glycogène dans des coupes d'organes, mais encore de déterminer son siège exact et la forme sous laquelle elle se présente dans les cellules du foie. Il est à peine nécessaire d'indiquer comment il faut procéder. Qu'il suffise de rappeler que les fragments de foie que l'on place dans l'acide osmique doivent être très petits, un millimètre et demi d'épaisseur environ, afin que l'action de l'eau ne précède pas la fixation par l'acide osmique. Les coupes, traitées par le sérum fortement iodé, montrent que la matière glycogène ne se présente pas sous forme de granulations, comme le croyait Claude Bernard, mais qu'elle est à l'état diffus. Ajoutons que cette substance peut sortir des cellules hépatiques soumises fraîches à l'action du sérum fortement iodé, comme des cellules lymphatiques, et en se comportant exactement de la même façon (voy. p. 145).

L'acide osmique ne colore pas le mucigène des cellules muqueuses ou caliciformes. Des coupes de la glande sous-maxillaire du chien, qui est une glande muqueuse, faites après durcissement dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, montrent la structure de cette glande au moins aussi nettement que si on en avait obtenu le durcissement par l'alcool ou l'acide picrique. Les cellules granuleuses qui forment les croissants ou demi-lunes, (voy. fig. 88) sont granuleuses et légèrement grises, les cellules muqueuses paraissent claires et incolores, et à un grossissement suffisant le réticulum protoplasmique paraît teinté de gris, tandis que le mucigène reste complètement incolore.

Si l'on voulait déterminer quelles sont les modifications qu'apporte l'acide osmique aux cellules muqueuses, il faudrait savoir quelle est la forme véritable de ces cellules quand elles sont vivantes, afin de pouvoir la comparer à celle qu'elles montrent après avoir été traitées par le réactif. On peut le faire, non pas pour les cellules de la sous-maxillaire du chien ni d'aucune autre glande muqueuse conglomérée, mais pour les cellules caliciformes qui sont, ainsi que l'a si bien établi F.-E. Schulze[2], des glandes muqueuses unicellulaires.

Il y a chez la grenouille une membrane muqueuse extrêmement mince qui cependant possède un revêtement épithélial formé de cellules à cils vibratiles et de cellules caliciformes : c'est la membrane qui recouvre le sac lymphatique rétrolingual. Cette membrane, détachée avec soin, est placée sur le disque de la chambre humide dans une goutte d'humeur aqueuse et maintenue en extension au moyen d'un anneau de platine (voy. p. 62); on recouvre d'une lamelle et on examine. On est frappé d'abord du mouvement des cils

1. Leçons sur le système glandulaire. (*Journal de micrographie*, 1883.)
2. *Loco citato.*

vibratiles. On ne distingue pas les cellules qui les supportent ; mais, de distance en distance, surtout dans certaines régions de la membrane, on aperçoit des globes clairs légèrement réfringents qui correspondent à des cellules caliciformes. Dans l'intérieur de ces globes, se trouvent des vacuoles dont le nombre et les dimensions sont fort variables. Leur forme varie également. En général elles sont sphériques ; mais elles peuvent être allongées, irrégulières, comme si elles étaient formées de plusieurs vacuoles confluentes. Enfin on en voit d'anguleuses. Elles contiennent un liquide beaucoup moins réfringent que le mucigène : elles deviennent obscures quand on éloigne l'objectif; ce sont de vraies vacuoles. Un phénomène intéressant, c'est qu'elles se déplacent et disparaissent, tandis qu'il s'en forme d'autres en un autre point. Certaines grandissent, souvent elles se fondent avec les vacuoles qui les avoisinent. Enfin, il y a dans les cellules caliciformes vivantes un mouvement vacuolaire qui est en rapport avec une grande activité de leur protoplasma. Ce sont des mouvements amiboïdes intérieurs comparables à ceux que l'on voit se produire dans les cellules lymphatiques de l'axoloti et qui ont une action si singulière sur la forme de leurs noyaux.

Si, après avoir constaté ces phénomènes, on enlève la lamelle qui recouvre la membrane rétrolinguale pour exposer cette membrane aux vapeurs d'acide osmique (voy. p. 76) pendant un temps suffisant pour produire la fixation des éléments, on est fort surpris en regardant ensuite la préparation de ne plus retrouver les vacuoles des cellules caliciformes. Celles-ci apparaissent comme des globes clairs dans lesquels on aperçoit seulement le réticulum protoplasmique. La différence de réfringence des vacuoles et du mucigène a-t-elle été seulement atténuée? Les vacuoles ont-elles réellement disparu? c'est ce qu'il serait difficile de dire si l'on se bornait à ce mode de préparation. Il y a deux procédés qui permettent de reconnaître que l'acide osmique n'a pas fait disparaître les vacuoles. Le premier c'est de faire agir des vapeurs de cet acide en présence de l'étain métallique[1].



Fig. 87. — Un groupe de cellules caliciforme de la membrane rétrolinguale de la grenouille rousse, traitées successivement par les vapeurs d'acide osmique et les vapeurs d'acide perruthénique. — La préparation est conservée dans la résine dammare.

Acide perruthénique. — Le second, consiste à soumettre aux vapeurs d'acide perruthénique la membrane déjà fixée par les vapeurs d'acide osmi-

1. Des vacuoles des cellules caliciformes, des mouvements de ces vacuoles et des phénomènes intimes de la sécrétion du mucus. (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1887.)

que[1]. Ce dernier procédé donne des préparations beaucoup plus nettes et qui peuvent être conservées dans la glycérine aussi bien que dans la résine dammare, tandis que la coloration des premières disparait dans la glycérine. Le mucigène y est coloré en noir et les vacuoles y sont absolument incolores. Cette réaction établit d'une manière positive que les vacuoles des cellules caliciformes, pas plus que les vacuoles des globules rouges du sang, ne contiennent de matières organiques; elles renferment de l'eau et probablement des sels inorganiques.

GLANDES HOLOCRINES ET MÉROCRINES. — MÉCANISME DE LA SÉCRÉTION

Nous avons vu déjà un peu plus haut (voy. p. 209) le mécanisme de la sécrétion des glandes sébacées. Le produit de sécrétions est formé par les cellules tout entières, arrivées au terme de leur évolution; ce sont des glandes *holocrines* ainsi que je les ai désignées. Les glandes muqueuses, comme je l'ai établi il y a déjà longtemps contre Heidenhain, sont des glandes *mérocrines*, c'est-à-dire des glandes dans lesquelles les cellules glandulaires, pour former le liquide de la sécrétion n'abandonnent qu'une partie de leur substance, celle qu'elles ont élaborée dans leur intérieur et à laquelle on donne généralement le nom de mucigène.

En 1870, dans la première édition française du traité d'histologie de Frey que j'avais annotée, j'ai publié les recherches que j'avais faites en 1869. J'ai repris plusieurs fois depuis l'étude expérimentale de la sécrétion des glandes salivaires. Je peux ajouter à ce que j'ai écrit à ce sujet il y a dix-huit ans, mais je n'ai rien à y changer; aussi vais-je le reproduire textuellement ici :

Les expériences de Ludwig et de Cl. Bernard sur la glande sous-maxillaire du chien ont ouvert une voie nouvelle à la physiologie et ont provoqué des recherches nombreuses sur la structure des glandes. En effet, lorsque Ludwig nous eut appris que l'excitation du nerf tympanico-lingual détermine la sécrétion de la glande sous-maxillaire, de même que l'excitation du nerf d'un muscle amène la contraction de ce muscle, les histologistes cherchèrent dans la structure de la glande des dispositions capables de rendre compte du mode d'action du nerf et du mécanisme de la sécrétion. Il en est résulté des études qui n'ont pas expliqué tous les phénomènes physiologiques observés, mais qui ont introduit des notions précises et tout à fait nouvelles sur la structure des glandes acineuses. A ce sujet, il convient de citer en première ligne les travaux de Giannuzzi (Von den Folgen des beschleunigten Blutstroms für die Absonderung des Speichels. Sächsische Academ. Sitzungsbericht. Mat. phys. 1865), de Pflüger (Die Endigungen der Absonderungsnerven in den Speicheldrüsen. Bonn, 1866), de Heidenhain (Studien des physiologischen Instituts zu Breslau, 1868), de F. Boll (Ueber den Bau der Thränendrüse, in Archiv. f. mikroskop. Anat., 1868, p. 146, Bd. IV. Beiträge zur mikroskopischen anatomie der acinosen Drüsen. Berlin, 1869) et de Langerhans (Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse. Inaug. Dissert., Berlin, 1869). J'ai entrepris moi-même des recherches sur cette importante question, et bien que je n'en aie pas encore publié le résultat, je m'en servirai pour la rédaction de cette note.

1. *Loco citato*, voy. page 77.

Les glandes acineuses sont toutes construites sur le même type. Leurs éléments essentiels sont des cellules disposées dans des culs-de-sac à la manière des épithéliums de revêtement. La forme de ces cellules est variable; le plus généralement elles ont l'apparence de pyramides dont la base est appuyée sur la paroi du cul-de-sac et dont le sommet correspond au centre de l'acinus. Ce sommet, qui est légèrement arrondi, limite une cavité centrale ou lumière, dont le contour se trouve ainsi festonné. Le contenu des cellules glandulaires n'est pas le même dans toutes les glandes acineuses. Il est en rapport avec le produit sécrété. Si la glande sécrète du mucus, les cellules sont grandes, nettes et transparentes. Si le produit de la sécrétion contient des ferments, les cellules sont très granuleuses. C'est ainsi que les glandes sous-maxillaires, sublinguales, buccales, etc., qui sécrètent du mucus sont des exemples remarquables du premier genre, et que le pancréas et les glandes de Brunner sont des modèles du second.

La couche qui limite les culs-de-sac a été considérée par la plupart des histologistes comme une membrane amorphe (basement membrane de Bowman); c'est là une erreur qui résulte des moyens que l'on employait pour la mettre en évidence, en particulier des solutions de potasse. Cette membrane renferme des noyaux plats. F. Boll dans son dernier travail la considère même comme formée par des cellules plates, ramifiées, anastomosées les unes avec les autres et constituant ainsi un réseau dont les mailles sont comblées par des expansions membraneuses. Dans un travail antérieur, F. Boll (Arch. f. mikr. Anat., t. IV, p. 146) pensait que ces cellules forment un réseau dont les mailles sont vides, et qu'elles envoient entre les cellules glandulaires des prolongements qui pénétreraient jusqu'au centre de l'acinus; mais il revient dans son dernier travail sur cette manière de voir; aujourd'hui il ne convient donc plus de la critiquer.

Les conduits excréteurs des glandes acineuses sont tapissés par un épithélium cylindrique dont les cellules, implantées perpendiculairement, présentent des stries fines longitudinales et montrent sur leur face libre un épaississement comparable au plateau des cellules à cils vibratiles. Ces stries ont été considérées par Pflüger (Die Speicheldrüsen in Handbuch von Stricker, 1869) comme des filaments nerveux terminaux; mais ils me paraissent avoir une tout autre signification, ainsi que je le dirai un peu plus loin.

Outre les conduits glandulaires à cellules striées, on trouve encore des conduits beaucoup plus étroits et tapissés de cellules plates (F. Boll.), et de plus un système de canalicules, découvert par Langerhans dans le pancréas du lapin, et qui est comparable à celui que l'on connaissait déjà dans le foie (pour la description et l'historique, voy. l'article consacré à ce dernier organe). De la lumière centrale du cul-de-sac partent des canalicules qui cheminent entre les cellules glandulaires et forment autour d'elles un réseau dont les canaux les plus superficiels sont situés au-dessous de la membrane propre. Ces canalicules sont d'une finesse extrême, ils ont seulement 0,002 à 0,004 de diamètre, ils ne peuvent être injectés qu'avec le bleu de Prusse soluble et à l'aide d'une pression continue. Je les ai injectés très facilement dans le pancréas, mais je n'ai pu les obtenir encore sur la glande sous-maxillaire du chien; la matière colorée a rempli la lumière des acinis, mais elle n'a pas pénétré au delà.

Il est une disposition très générale des glandes acineuses bien étudiée par F. Boll dans son dernier travail et qui est relative aux lymphatiques de ces glandes. Ludwig et Tomsa (die Lymphwege, etc. in Wiener Acad. 1862) avaient montré que dans les testicules, les conduits séminifères sont séparés les uns des autres par

des espaces où circule la lymphe; ou bien pour rendre compte de la même disposition sous une autre forme, que les tubes séminifères sont plongés dans un vaste sac lymphatique. Les lymphatiques formeraient dans les glandes acineuses un système entièrement comparable. Les culs-de-sac de la glande seraient séparés par des fentes dans lesquelles circulerait la lymphe.

J'ai moi-même étudié cette disposition, et il me semble qu'elle a une signification plus générale encore. Ces fentes sont le plus souvent limitées par des faisceaux de tissu conjonctif recouverts de cellules plates qui ne forment pas un revêtement continu. Dès lors, je pense qu'il s'agit là d'espaces semblables à ceux qui existent entre les faisceaux du tissu conjonctif. Il est certain que ceux qui ne connaissaient pas la structure du tissu conjonctif lâche, telle que je l'ai décrite, prenaient très facilement pour des lymphatiques les espaces compris entre les faisceaux de tissu conjonctif. Cette confusion n'est pas très grave puisque la lymphe circule dans ces espaces, mais cependant elle est fautive en ce sens qu'elle établit une erreur anatomique.

Avant d'en arriver au mécanisme de la sécrétion de la glande sous-maxillaire du chien, je dois ajouter quelques détails de structure relatifs à cette glande et à toutes celles qui sécrètent du mucus. Quand on a fait macérer pendant quelques heures des fragments de ces organes dans du sérum iodé, dans une solution de bichromate de potasse à $\frac{2}{1000}$ ou dans une solution faible d'acide picrique, on en obtient, par la dissociation, des cellules globuleuses, transparentes, et qui portent un prolongement plus ou moins allongé et formé d'une matière granuleuse. Au niveau de celui-ci et dans l'intérieur de la cellule, il existe un noyau aplati. A côté de ces cellules, on en observe d'autres beaucoup plus petites, chargées de granulations anguleuses et possédant un noyau sphérique. Le plus souvent ces dernières cellules sont soudées à des cellules semblables et constituent ainsi des groupes en forme de croissant ou de demi-lune.

Dans des coupes pratiquées sur les glandes après durcissement dans l'alcool ou mieux dans une solution saturée d'acide picrique, on reconnaît que ces croissants, découverts par Giannuzzi, sont placés, dans les culs-de-sac entre leur membrane limitante et les cellules muqueuses, non pas sur toute la surface de la membrane, comme on le croit généralement, mais seulement à l'extrémité des culs-de-sac. Dans les mêmes préparations, on constate que les cellules muqueuses sont soudées les unes aux autres par une substance réfringente qui forme entre elles un liséré régulier, et que le noyau plat de ces cellules est toujours appliqué sur celle de leurs faces qui repose sur la membrane du cul-de-sac. Ce noyau y est maintenu par une substance granuleuse, que je considère comme un amas de protoplasma.

C'est à Heidenhain que revient le mérite d'avoir étudié le premier les modifications histologiques qui surviennent dans la glande sous-maxillaire après l'excitation prolongée du nerf tympanico-lingual. J'ai répété un grand nombre de fois cette remarquable expérience, et les résultats auxquels je suis arrivé confirment certaines des conclusions d'Heidenhain, mais elles en infirment d'autres.

Lorsque, dans l'espace de plusieurs heures, on a obtenu par l'excitation galvanique de la corde du tympan une quantité de salive de 75 à 125 grammes pour une glande du poids de 7 à 12 grammes, on observe dans de bonnes préparations de la glande des modifications très considérables du contenu des culs-de-sac glandulaires. A la place des grandes cellules muqueuses, il existe des cellules beaucoup plus petites, formées d'une matière granuleuse. Heidenhain admet que les cellules muqueuses se sont détruites pour former la matière de la sécrétion, et que leurs débris se sont échappés avec le liquide salivaire. Les cellules détruites seraient

alors remplacées par les petites cellules des croissants de Giannuzzi, proliférées et agrandies. Heidenhain a étudié les glandes modifiées dans des préparations obtenues par le durcissement dans l'alcool, la coloration au carmin et l'action de la glycérine acidifiée par l'acide acétique.

De plus ses expériences ont été faites chez des chiens endormis avec la morphine, d'après les renseignements qu'il m'a donnés lui-même. Je me suis convaincu, en répétant ces expériences, que le durcissement dans l'alcool ne fournit pas des préparations suffisamment nettes pour apprécier un processus physiologique aussi délicat. En outre, j'ai recueilli des salives différentes, suivant que le chien avait été opéré sans anesthésique ou qu'on lui avait administré du chlorhydrate de morphine. Dans le premier cas, la salive est fluide et ne contient pas de corps qui puissent être assimilés à des débris de cellules; dans le second cas, la salive est épaisse et renferme des corps transparents de forme très variable. Ces corps sont des cylindres courts ou très allongés, terminés par des surfaces mousses ou en forme de fuseau; ou bien ce sont des masses oblongues, arrondies à une de leurs extrémités et coniques à l'autre. Quelques-uns de ces corps sont cylindriques et présentent dans certaines de leurs portions des renflements fusiformes. Tous ces corps sont simplement des moules comparables à ceux que l'on trouve dans les urines albumineuses, et qui constitués par du mucus épais ont été comprimés et rejetés par les canaux excréteurs. Ces canaux ne contiennent pas de fibres musculaires dans leur paroi, mais il est bien probable que leurs cellules épithéliales striées sont contractiles. C'est à leur activité qu'il faut rattacher l'expulsion presque instantanée de la salive sous l'influence de l'excitation du nerf tympanico-lingual.



Fig. 88. — Coupe de la glande sous-maxillaire du chien, normale, faite après durcissement par l'alcool. Coloration par le picrocarminate. Conservation de la préparation dans la glycérine. — *g*, cellule à mucus; *c*, croissant de Giannuzzi; *l*, lumière des culs-de-sac glandulaires.



Fig. 89. — Coupe de la glande sous-maxillaire du chien, après qu'on l'a fait abondamment sécréter pendant quatre heures par l'excitation de la corde du tympan (même préparation et même grossissement que la figure 88). — *g*, cellules glandulaires dont le mucus a été expulsé par la sécrétion et dont les noyaux ont augmenté de volume; *c*, cellules des croissants de Giannuzzi, qui ont subi un notable accroissement.

Pour étudier la glande sous-maxillaire saine et après la galvanisation prolongée de la corde du tympan, j'y ai pratiqué des coupes après durcissement dans l'acide

picrique et je les ai colorées avec le picrocarminate d'ammoniaque. Dans de semblables préparations, j'ai pu constater de la manière la plus évidente que, sous l'influence de la sécrétion abondante provoquée par l'excitation des nerfs, les culs-de-sac glandulaires perdent de leur diamètre et que les cellules muqueuses se vident peu à peu de leur contenu sans se détruire. A l'aide d'un grossissement de 400 à 600 diamètres, on constate encore les modifications suivantes : le noyau plat qui occupe le fond de la cellule s'est gonflé, est devenu sphérique et a maintenant un double contour évident ; le protoplasma granuleux qui englobe le noyau a pris un volume plus considérable et s'est étendu dans l'intérieur de la cellule, tandis que la portion muqueuse de celle-ci a diminué ou même a complètement disparu. Les cellules du croissant marginal se sont également gonflées et sont beaucoup plus distinctes les unes des autres. Dans certains culs-de-sac, toutes les cellules ont perdu leur mucus et sont transformées en cellules granuleuses ; dans d'autres culs-de-sac, on peut suivre toutes les modifications successives qui amènent cette transformation.

En résumé, le produit sécrété par les glandes muqueuses provient de leurs cellules ; mais, pour le former, les cellules glandulaires abandonnent simplement la matière élaborée dans leur intérieur ; elles ne se détruisent pas entièrement, comme l'a dit Heidenhain. Leur portion active (noyau et protoplasma) persiste, et c'est elle qui très probablement répare les pertes de la sécrétion.

L'excrétion n'est pas due à l'endosmose, car celle-ci devrait gonfler les culs-de-sac, et l'on a vu qu'ils sont au contraire diminués. Pflüger (loc. cit.) a cherché à expliquer par l'action directe des nerfs sur les cellules l'effet si remarquable obtenu par l'excitation de la corde du tympan. En employant l'acide osmique pour préparer la glande, il a vu les filaments nerveux traverser la membrane du cul-de-sac et pénétrer dans les cellules ; mais cette disposition n'a été observée par aucun autre histologiste et je l'ai recherchée vainement. Du reste, elle ne pourrait rendre compte du mécanisme de la sécrétion et de l'excrétion. Cette dernière, qu'il ne faut pas confondre avec la sécrétion ou élaboration des produits de la glande, s'effectue dans les gros conduits glandulaires, tapissés d'épithélium strié, par une véritable contraction, ainsi que le démontre la forme des masses muqueuses trouvées dans la salive sous-maxillaire[1].

Aujourd'hui l'analyse des phénomènes vacuolaires des cellules caliciformes de la membrane rétrolinguale de la grenouille m'a permis de pénétrer plus profondément dans le mécanisme de la sécrétion des glandes muqueuses.

Lorsque la membrane rétrolinguale est convenablement disposée, sa face épithéliale en haut, sur le disque de la chambre humide et fixée sur ce disque avec l'anneau de platine, on peut placer les électrodes de papier d'étain de manière à faire passer un courant d'induction interrompu sur un groupe de cellules caliciformes. Le mouvement vacuolaire y devient extrêmement intense, les vacuoles s'agrandissent, il s'en forme d'autres dans leur

1. En 1869, étant à Leipzig, j'ai eu l'occasion de rencontrer, dans le laboratoire du professeur Ludwig, M. Heidenhain. Nous nous sommes longuement entretenus de cette question si intéressante de la transformation des glandes à la suite de l'excitation de leurs nerfs. Je lui fis part du résultat de mes recherches et nous le discutâmes. De retour en France, je publiai la note que l'on vient de lire et elle fut analysée dans le *Centralblatt* par F. Boll. (*Centralblatt f. med. Wiss.*, 1870, p. 486.)

On remarquera que M. Heidenhain n'a jamais cité mes travaux, bien qu'il ait abandonné sa manière de voir pour adopter la mienne, ce dont je suis très honoré.

voisinage, elles confluent; peu à peu le mucigène est expulsé et on assiste à la transformation des cellules muqueuses en cellules séreuses. Il est vraisemblable que, dans les cellules muqueuses de la glande sous-maxillaire du chien et des autres glandes muqueuses, la sécrétion dépend de phénomènes vacuolaires analogues.

Ces phénomènes vacuolaires, on les observe, de la manière la plus nette, dans la glande sous-maxillaire du rat dont on a excité pendant deux ou trois heures les nerfs glandulaires au moyen d'un courant d'induction interrompu ou dont on a déterminé la sécrétion au moyen de la pilocarpine[1].

La glande sous-maxillaire du rat[2] (mus decumanus), qu'il ne faut pas confondre avec la rétrolinguale, est une glande séreuse. Les cellules qui en occupent les culs-de-sac sont granuleuses et ont un noyau central. Les premiers canaux glandulaires dans lesquels les culs-de-sac versent leur produit de sécrétions sont tapissés de cellules cylindriques qui, dans les coupes faites après durcissement par l'acide osmique, sont colorées en brun comme les cellules qui occupent le col des culs-de-sac de la sous-maxillaire du lapin.

Ces canaux, après un long parcours, se transforment en canaux à épithélium cylindrique à stries rayonnées, semblables aux canaux excréteurs de la sous-maxillaire du chien. Nous reparlerons des premiers de ces canaux à propos de la préparation de cette glande avec l'acide picrique (voy. p. 221).

Les cellules granuleuses des culs-de-sac de la sous-maxillaire du rat, après une excitation prolongée, examinées dans des coupes faites après durcissement par l'acide osmique paraissent creusées de vacuoles si nombreuses et si grandes que la structure de la glande paraît complètement changée.

Il est de toute évidence que les vacuoles jouent un rôle très considérable dans la sécrétion de toutes les glandes mérocrines. Développées au sein du protoplasma, elles s'y déplacent et viennent s'ouvrir à la surface de la muqueuse pour les cellules caliciformes et dans la lumière glandulaire pour les glandes conglomérées. On conçoit que, dans cette migration des vacuoles, le liquide qu'elles contiennent puisse se charger des produits spéciaux élaborés par les cellules glandulaires pour les transporter au dehors.

Langerhans[3] est le premier histologiste qui ait observé la réaction singulière de l'acide osmique sur l'épiderme. Il a remarqué que des coupes de la peau, faites perpendiculairement à sa surface, sur de petits fragments durcis par l'acide osmique, présentaient une coloration noire intense. Max Schultze avait observé que le membre externe des cônes et des bâtonnets de la rétine se colore en noir sous l'influence de l'acide osmique, aussi bien que les granulations graisseuses. Langerhans, ne chercha pas à expliquer cette coloration des éléments de la couche cornée et il les ajouta simplement à la suite

1. J'ai fait connaître ces faits avec tout le détail des expériences aux auditeurs de mon cours au Collège de France; mais je ne les ai pas encore publiés autrement. Comme ils me paraissent avoir de l'importance, j'ai cru devoir les indiquer ici.

2. Étude anatomique des glandes connues sous les noms de sous-maxillaire et sublinguale chez les mammifères. (*Arch. de Physiologie*, 1886.)

3. *Langerhans*, Ueber Tastkoerperchen und Rete Malpighi. (*Arch. f. micr Anat* t. IX, 1873.)

dans la liste des éléments qui sont colorés en noir par l'acide osmique. Plus tard, j'ai montré que la coloration noire de la couche cornée provenait simplement de ce que cette couche est infiltrée de graisse.

En effet, elle ne se produit pas si l'on a enlevé la graisse qui infiltre l'épiderme au moyen de l'alcool absolu, avant de le soumettre à l'action de l'acide osmique. Pour réussir cette réaction il faut procéder comme il suit : le fragment de peau est durci par l'alcool. On y fait des coupes. Ces coupes sont placées dans de l'alcool absolu. On les met ensuite dans l'eau pour enlever l'alcool; puis on les traite par l'acide osmique. La couche cornée ne se colore plus. Pour plus amples renseignements, voyez le chapitre de cet ouvrage consacré à la peau.

Acide picrique. — L'acide picrique en solution aqueuse est un des meilleurs réactifs durcissants, mais aussi des plus difficiles à manier. Les fragments de tissus que l'on y met doivent être très petits et la solution d'acide picrique saturée. Ils y acquièrent de la fermeté, mais ils ne sont pas tannés comme par l'acide chromique. Les sections doivent être faites de façon à ne pas comprimer la surface avec le rasoir; l'opération est délicate. Ces précautions ne sont plus nécessaires si l'on complète le durcissement par l'action successive de la gomme et de l'alcool. La coloration se fait ensuite avec le picrocarminate d'ammoniaque et donne de très beaux résultats. Les préparations sont montées dans la glycérine.



Fig. 90. — Glande sous-maxillaire du chien adulte. Coupe faite après durcissement par l'acide picrique. Coloration par le picrocarminate. — A, acinus coupé suivant son axe; B, acinus coupé en travers, près de son fond; *a*, cellule muqueuse; I, canal excréteur muni d'un épithélium strié; *m*, couche endothéliale avec des noyaux *n*; *g*, croissants de Gianuzzi; *in*, lacunes lymphatiques intermédiaires. — 550 diam.

Dans la glande sous-maxillaire du chien, préparée de cette façon, on observe nettement les culs-de-sac glandulaires avec leurs croissants de Gianuzzi[1] et leurs cellules muqueuses, les canaux glandulaires avec leur épithélium cylindrique à stries rayonnées (voy. fig. 90).

Des coupes de la glande sous-maxillaire du rat (mus decumanus), durcie par l'acide picrique et l'alcool, montrent, quand on les colore par le violet BBBBB ou le bleu de quinoléine, une réaction intéressante.

1. *Gianuzzi.* Von den Folgen des beschleunigten Blutstroms für die Absonderung des Speichels. (*Saechs. Academ. Sitzunsber.* 1865.)

Dans ces préparations, les cellules de la première portion des canaux excréteurs (voy. p. 219) sont colorées fortement comme les cellules des glandes du pylore et les cellules principales des glandes du fond de l'estomac du chien. Seulement les cellules de la sous-maxillaire du rat, dont nous parlons, ne prennent pas la teinte caractéristique si on les fait durcir par l'alcool seul. Ce sont donc des cellules cyanophiles spéciales.

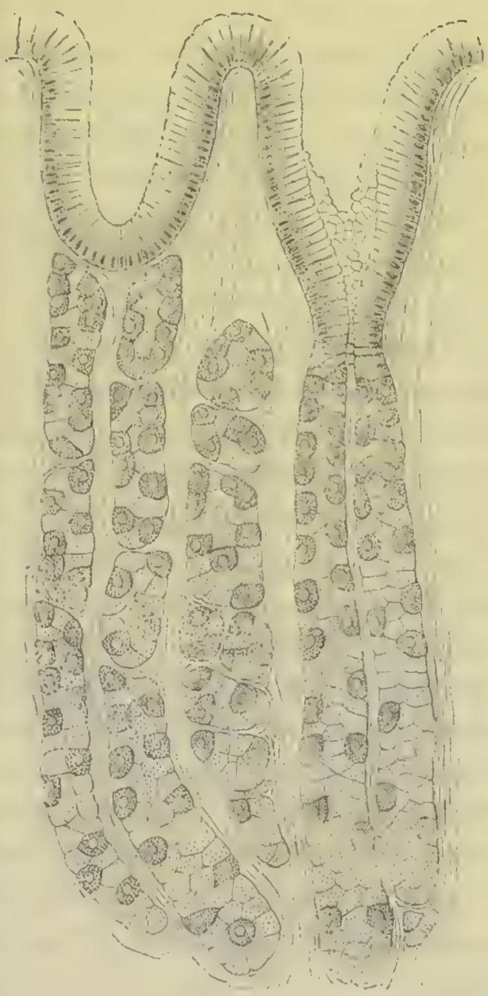


Fig. 91.
Glande du fond de l'estomac du chien.

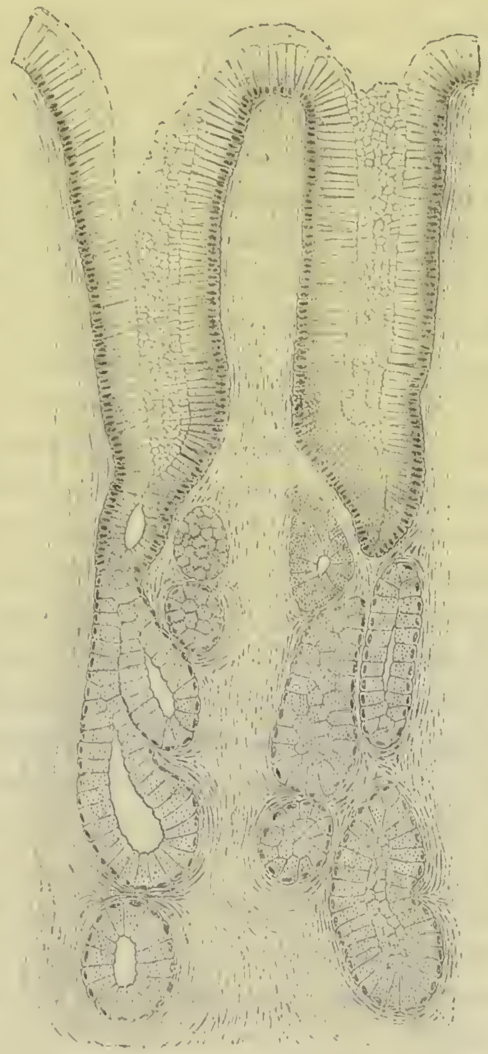


Fig. 92.
Glandes pyloriques du chien.

(Figures empruntées à Heidenhain).

L'acide picrique est un excellent réactif fixateur des noyaux épithéliaux et convient par conséquent dans l'étude de la division indirecte des cellules épithéliales. Nous y reviendrons un peu plus loin.

Rapports des épithéliums avec les vaisseaux sanguins. — En général, les épithéliums ne sont pas vasculaires. Il y a deux exceptions remarquables à cette règle. L'une s'observe dans le labyrinthe auditif des mammifères, l'autre dans le foie.

Pour étudier le rapport des vaisseaux sanguins et des cellules épithéliales, il est nécessaire de faire au préalable une injection des vaisseaux sanguins (voy. Capillaires sanguins et Labyrinthe membraneux).

Il n'a pas été question du tout, dans ce chapitre relatif aux épithéliums, des épithéliums spéciaux des organes des sens, épithéliums sensoriels. Ces épithéliums ont une importance telle qu'il est nécessaire de leur consacrer un chapitre spécial.

Développement et accroissement des épithéliums. — Nous avons vu (p. 190) que les épithéliums, aussi bien les épithéliums de revêtement que les épithéliums glandulaires se développaient aux dépens des trois feuillets du blastoderme et que ces feuillets étaient formés de cellules qui procèdent des boules de segmentation.

Multiplication des boules de segmentation. — Chacune de ces boules contient un noyau et son protoplasma peut être considéré comme une fraction du vitellus de formation. Elles se multiplient par un procédé que l'on caractérise aujourd'hui sous le nom de multiplication par division indirecte, et qui a été observé pour la première fois par Strasburger dans les cellules des végétaux. H. Fol l'a trouvé ensuite dans les boules ou sphères de segmentation de l'œuf des échinodermes.

Depuis, la multiplication par division indirecte des boules ou cellules de segmentation a été observée dans un grand nombre d'espèces animales. Nous rappellerons à ce sujet les belles recherches de MM. Balbiani et Henneguy. Nous empruntons à ce dernier observateur presque tout ce que nous allons dire maintenant de la division indirecte ou karyokinèse des cellules de segmentation.

Il n'est pas facile d'observer la karyokinèse dans les cellules de segmentation de l'œuf de poule, parce qu'elles sont très petites et sont chargées d'un trop grand nombre de granulations vitellines. Pour reconnaître les différentes phases de la division indirecte de ces éléments, il est préférable de s'adresser aux œufs des batraciens anoures ou urodèles, grenouilles, tritons, axolotl, etc. Deux ou trois jours après la fécondation, les œufs sont fixés par l'acide chromique ou l'acide picrique; au lieu de ce dernier réactif on peut prendre le liquide de Kleinenberg. On complète le durcissement par l'alcool. Après les avoir colorés tout entiers par le carmin au borax et déshydratés par l'alcool absolu, les œufs sont inclus dans la celloïdine ou la paraffine. Dans ce dernier cas, les coupes sont faites avec le microtome à bascule de Cambridge. Pour les examiner, on les monte dans le baume du Canada ou la glycérine.

Bien qu'elles contiennent un très grand nombre de granulations vitellines solides (voy. p. 188), les sphères de segmentation des batraciens possèdent des noyaux si volumineux et d'une structure si nette qu'il est possible d'y suivre aisément les différentes modifications qu'ils présentent dans les phases successives de la division indirecte.

Les œufs des poissons osseux (truite, saumon, etc.) conviennent également pour l'étude de la division indirecte des cellules. Voici la méthode recommandée par M. Henneguy : du quatrième au cinquième jour après la ponte, les œufs sont placés pendant quelques minutes dans du liquide de Kleinenberg additionné d'acide acétique, dans la proportion de 10 pour 100, puis portés dans de l'eau rendue acide par l'addition d'acide acétique. Chaque œuf

y est alors ouvert avec des ciseaux ou une aiguille à cataracte, le vitellus s'y dissout et le germe est extrait sans difficulté de la capsule de l'œuf. Il est porté sur une lame de verre et y est dissocié avec des aiguilles; on en colore les cellules avec le vert de méthyle, le carmin ou l'hématoxyline. La préparation est conservée dans la glycérine.

Le germe extrait de la capsule de l'œuf peut aussi être placé tout entier dans le liquide de Kleinenberg puis, successivement, dans l'alcool à 60°, l'alcool à 70° et l'alcool à 90°. On colore en masse, on inclut dans la paraffine et on fait les coupes comme pour les œufs des batraciens.

Il convient de commencer l'étude de la karyokinèse par l'observation des phénomènes qui se montrent dans les cellules de segmentation, lorsqu'elles sont en pleine activité formative, parce qu'on y voit admirablement, non seulement les particules élémentaires des noyaux qui se colorent par le carmin, l'hématoxyline et les couleurs d'aniline et qu'on désigne généralement avec Flemming sous le nom de *figures chromatiques*, mais encore d'autres particules élémentaires dont on discute encore actuellement la nature et l'origine et qui s'arrangent de manière à former des *figures achromatiques*.

Comme dans les préparations, ces dernières figures sont incolores, il est difficile de les observer, à moins qu'elles ne soient extrêmement nettes. C'est le cas des cellules de segmentation de l'œuf des poissons, de l'œuf de truite en particulier. Ces cellules, du troisième au quatrième jour après la ponte, paraissent formées de protoplasma granuleux. Leur noyau, relativement volumineux, possède une membrane d'enveloppe, et dans son intérieur on observe un réseau dont les travées se sont fortement colorées dans le réactif employé (voy. 1, fig. 95). Lorsqu'une cellule de segmentation se divise, le premier phénomène que l'on y observe consiste dans l'apparition autour du noyau d'une zone claire de laquelle partent, en divergeant, des rayons formés de granulations protoplasmiques placées bout à bout. Ces rayons qui se terminent à une faible distance de la surface de la cellule, par leur ensemble, forment ce qu'on appelle un aster (1, fig. 95). Les rayons de l'aster ne se colorent par aucun des réactifs que l'on a employés jusqu'à présent pour teindre les cellules de segmentation.

L'aster prend une forme elliptique; le noyau qui en occupe le centre s'allonge dans la même direction.

Bientôt les rayons de l'aster forment deux groupes, et il se fait ainsi deux nouveaux asters ayant leur centre à chacune des extrémités du grand axe du noyau (2, fig. 95).

Au niveau de ces extrémités, la membrane nucléaire se plisse, puis disparaît pour livrer passage à un certain nombre de rayons des asters qui pénètrent dans l'intérieur du noyau (3, fig. 95).

Pendant que se passent les phénomènes que nous venons de décrire, le réseau chromatique s'est fragmenté et a formé ainsi de petits bâtonnets flexueux qui se groupent dans la région médiane du noyau aux extrémités de la membrane de celui-ci dans la région des asters. La membrane nucléaire disparaît alors complètement, et l'élégante figure que donne l'ensemble des

filaments non colorés (voy. 4, fig. 95), ceux qui forment le fuseau central et ceux qui divergent à la périphérie, constitue l'amphiaster de Fol. Les filaments ou bâtonnets chromatiques, disposés assez régulièrement à la partie moyenne du fuseau, forment la plaque équatoriale des auteurs. Dans une phase ultérieure de la division (voy. 5, fig. 95), les bâtonnets de la plaque équatoriale se séparent et forment deux rangées qui se dirigent chacune en sens contraire vers l'axe des deux asters. Arrivés aux extrémités du fuseau qui a pris la forme d'un rectangle, les bâtonnets chromatiques se groupent

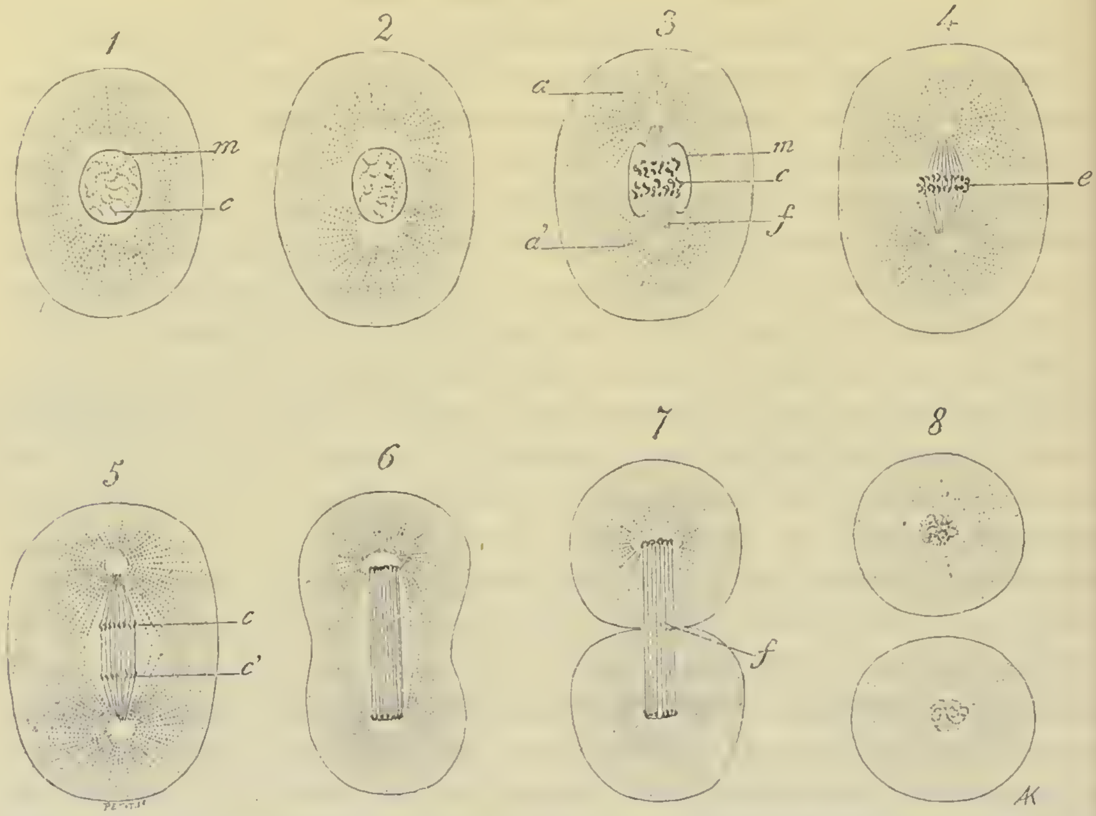


Fig. 95. — Phases successives de la division des boules ou cellules de segmentation du germe de la truite, d'après Henneguy. — 1, formation de l'aster; *m*, membrane du noyau; *c*, filaments chromatiques de ce noyau; 2, première ébauche de l'amphiaster; 3, les deux asters *a* et *a'* sont bien formés et le fuseau *f* apparaît; *m*, membrane du noyau, qui a disparu au niveau du fuseau; *c*, filaments chromatiques du noyau; 4, pour montrer la plaque équatoriale *e*; 5, les deux groupes de filaments chromatiques de la plaque équatoriale se sont séparés; 6, formation des deux figures pectiniformes; 7, division de la cellule; les deux cellules de nouvelle formation ne sont plus unies que par les filaments connectifs *f*. En 8, la division de la cellule primitive est complètement effectuée; les noyaux sont à l'état de repos et les asters ont disparu.

pour constituer une figure pectiniforme (voy. 6, fig. 95). La cellule se divise en s'étranglant en son milieu (6 et 7, fig. 95). Quand cette division commence, les rayons des asters ont en partie disparu; mais les filaments qui unissent les deux figures pectiniformes ou *filaments connectifs*, persistent jusqu'à la séparation complète des deux cellules nouvelles (7 et 8, fig. 95). Dans chacune de ces cellules, les bâtonnets chromatiques se gonflent, se transforment en vésicules qui s'accolent, se fusionnent et arrivent à former une masse spongieuse dans laquelle se reproduit le réseau chromatique du noyau à l'état de repos.

Si les cellules de segmentation des poissons sont des objets excellents

pour l'étude des figures achromatiques, la petitesse des bâtonnets chromatiques ne permet pas de suivre toutes les transformations de ces particules élémentaires. Dans les cellules de segmentation de l'œuf des batraciens, au contraire, comme du reste, ainsi que nous allons le voir, dans les cellules épithéliales des mêmes animaux lorsqu'ils se sont développés, on peut beaucoup mieux observer ce qui se produit dans les filaments chromatiques aux différentes phases de la division des cellules.

Multiplication des cellules épithéliales. — Les larves de la salamandre maculée (*Salamandra maculosa*), ainsi que Flemming l'a fait remarquer avec juste raison, doivent être choisies lorsque l'on veut s'exercer à l'étude de la division indirecte des cellules du tissu épithélial et des autres tissus.

Pour se procurer en abondance des larves de salamandre maculée, le procédé le plus simple consiste à choisir une femelle pleine ayant commencé à faire ses petits, à lui enlever l'utérus après avoir ouvert la cavité abdominale et à dégager successivement chacune des petites salamandres que l'on reçoit dans un cristallisoir rempli d'eau. Immédiatement elles se mettent à nager et, si on leur offre des vers rouges, larves de chironomus, elles se mettent à les dévorer. Si l'on a soin de leur en fournir de manière qu'elles n'en manquent jamais, elles se développent très rapidement, et leur nutrition est tellement active qu'elles présentent toujours, dans les jours et dans les semaines qui suivent leur mise en liberté, un grand nombre de cellules à différentes phases de la division indirecte, soit dans leur épiderme, soit dans leur épithélium buccal, soit dans les différents tissus de leur organisme.

Les réactifs que l'on peut employer pour fixer les éléments en voie de division indirecte sont assez nombreux , l'acide chromique, l'acide osmique, les mélanges d'acide chromique et d'acide osmique, d'alcool et d'acide osmique, les solutions saturées d'acide picrique, le liquide de Kleinenberg, etc. Parmi tous ces réactifs, on doit donner la préférence à ceux qui, tout en fixant convenablement les noyaux en voie de division, ne gênent en rien ou favorisent l'action ultérieure des matières colorantes sur les figures chromatiques. A ce point de vue, l'acide picrique doit être préféré, et je ne me doutais pas qu'il jouissait de cette propriété lorsque, il y a bien longtemps, j'ai introduit ce réactif dans la technique histologique.

Les larves de salamandre que l'on veut utiliser pour l'étude de la karyokinèse sont plongées, vivantes encore, dans la solution d'acide picrique, ou, ce qui est préférable, divisées en fragments avant d'être soumises à l'action du réactif. Deux ou trois jours après, la pièce dont les éléments sont fixés par l'acide picrique étant placée dans l'eau, on en détache, au moyen de la pince ou des aiguilles, des lambeaux du revêtement épidermique ou de l'épithélium buccal. Ces lambeaux sont colorés en jaune assez intense, mais ils se décolorent dans l'eau. Lorsqu'ils ne sont presque plus colorés, on les traite par l'hématoxyline nouvelle sur la lame de verre ou dans un verre de montre. On les teint ensuite par l'éosine, et on les monte en préparation persistante dans la glycérine. Ces préparations sont extrêmement

nettes d'abord; mais au bout de quelques semaines ou de quelques mois, les parties qui ont été colorées par l'hématoxyline pâlissent, et, à la longue, elles se décolorent complètement. On peut très facilement, lorsque la coloration violette de l'hématoxyline a disparu, ramener les éléments à leur coloration primitive en introduisant sous la lamelle de la préparation de l'hématoxyline nouvelle à la glycérine (voy. p. 92).

Si les préparations sont montées dans la résine dammare, elles se conservent plus longtemps; mais, au bout de cinq ou six ans, les parties élémen-

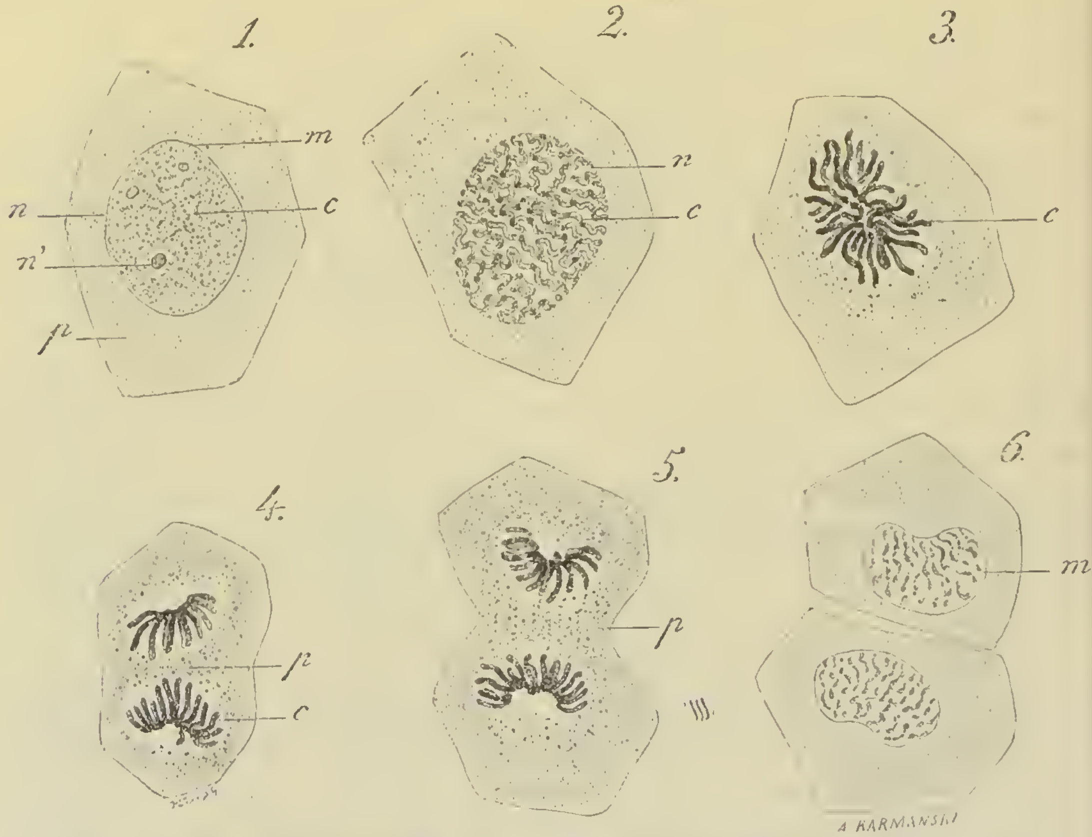


Fig. 94. — Cellules de l'épithélium labial d'une larve de salamandre de trois semaines.
1. cellule à l'état de repos; *p*, protoplasma: *n*. noyau: *n'*. nucléole; *m*. membrane du noyau: *c*, filaments chromatiques: 2, première phase de la multiplication par division indirecte: les filaments chromatiques *c* du noyau *n* ont pris un grand développement: 3. les filaments chromatiques se sont groupés en couronne et la membrane du noyau a complètement disparu: 4, les filaments chromatiques forment deux groupes, comme dans la plaque équatoriale; la cellule s'étrangle. En 5. l'étranglement est plus accusé et le protoplasma formé de grosses granulations se colorant fortement par l'éosine, comme en 3 et 4, se range en séries linéaires représentant les filaments connectifs du fuseau de l'amphiaster. En 6. la division des cellules est effectuée, les noyaux reviennent à l'état de repos, leurs filaments chromatiques sont encore bien marqués: ils sont entourés d'une membrane *m* et sont réniformes.

taires colorées par l'hématoxyline pâlissent et se décolorent. Comme on ne peut plus alors leur restituer leur coloration primitive, il faut préférer la glycérine à la résine dammare ou au baume pour conserver des tissus colorés par l'hématoxyline nouvelle et l'éosine.

Les cellules de l'épiderme des larves de la salamandre montrent très nettement les différentes phases de la karyokinèse. Il vaut cependant mieux prendre l'épithélium buccal, soit celui de la voûte palatine, soit celui des lèvres, parce que les noyaux y ont un volume plus considérable. La figure 94

représente une série de cellules observées dans le même lambeau de l'épithélium labial d'une larve de salamandre sacrifiée trois semaines après la naissance et bien nourrie.

La cellule 1 montre son noyau à l'état de repos *n*, entouré d'une membrane, contenant trois nucléoles et des filaments chromatiques petits, irréguliers.

Dans la cellule 2, on observe les premières modifications qui se produisent dans les noyaux qui vont se multiplier. Les nucléoles ont disparu, les filaments chromatiques *c* ont pris un développement considérable et sont colorés très vivement par l'hématoxyline.

Dans la cellule 3, la membrane nucléaire a complètement disparu. L'espace réservé au noyau est représenté par une zone claire dans laquelle on observe des filaments chromatiques sous la forme d'une série de bâtonnets rayonnants.

Dans la cellule 4, les bâtonnets sont disposés en deux groupes qui correspondent à la plaque équatoriale, dont il a été question plus haut à propos de la division indirecte des cellules de segmentation des poissons osseux.

Dans la cellule 5, sur le point de se diviser, les deux groupes de filaments chromatiques se sont éloignés l'un de l'autre. Ils correspondent aux figures pectiniformes des cellules de segmentation. Entre ces deux figures, on observe des rangées de granulations qui sont colorées par l'éosine et pas du tout par l'hématoxyline. Ces granulations correspondent aux filaments connectifs; ils font partie des figures achromatiques dont on ne peut observer tous les détails dans les cellules épithéliales.

Les deux cellules 6 viennent de se diviser, et leurs noyaux réniformes qui rappellent les figures pectiniformes se sont enveloppés chacun d'une membrane distincte et contiennent des filaments chromatiques irrégulièrement distribués, moniliformes, qui sont en train de revenir à l'état de repos.

Le protoplasma des cellules dont les noyaux montrent les phases différentes de la karyokinèse est généralement coloré plus fortement par l'éosine que celui des cellules à l'état de repos. Par conséquent, la double coloration rend plus démonstratives les préparations, en attirant immédiatement le regard sur toutes les cellules en activité formative dont on voit, même à un très faible grossissement, les filaments chromatiques très fortement colorés en violet et le protoplasma teinté assez vivement en rose.

GÉNÉRALITÉS SUR LES ÉPITHÉLIUMS

Le mouvement des cils vibratiles nous a montré d'une façon bien nette la vitalité des cellules épithéliales et nous a rappelé les mouvements des cellules lymphatiques. Comme ces derniers, les mouvements des cils peuvent s'observer sous le microscope et dépendent des mêmes conditions. L'observation des cellules à cils vibratiles soumises à l'action de certaines matières colorantes conduit à penser que la vie de ces cellules ne consiste pas seulement dans la faculté de produire des mouvements, mais encore dans la

capacité d'accepter ou de refuser les échanges physico-chimiques. Du reste, les cellules épithéliales ont toutes une activité nutritive spéciale, puisque l'on trouve dans l'intérieur de beaucoup d'entre elles, de la matière glycogène, de la graisse ou du mucus. Presque toutes les cellules épithéliales jeunes, dans leur période d'activité, peuvent être considérées comme des glandes unicellulaires; les unes retiennent dans leur intérieur les produits élaborés (matière glycogène, graisse), les autres les laissent exsuder à leur surface (mucus des cellules caliciformes). Tout en formant des couches de revêtement et de protection, ces cellules sont donc aussi des organes de sécrétion, aussi bien que celles qui tapissent la paroi des glandes. La seule différence, c'est que dans les glandes, le produit de la sécrétion d'un grand nombre de cellules est réuni dans des canaux qui arrivent à une même embouchure, tandis que hors des glandes chaque cellule a une excrétion individuelle. La grande division des épithéliums en épithéliums de revêtement et épithéliums glandulaires, tout en conservant sa valeur au point de vue pratique, n'est donc pas fondée au point de vue de l'histologie générale.

On admet que dans le plus grand nombre des épithéliums, les cellules sont soudées les unes aux autres par un ciment. Ce serait ce ciment qui assurerait la solidité de ces épithéliums. Ce ciment serait attaqué par les réactifs dissociateurs et posséderait la propriété de réduire le nitrate d'argent.

On avait remarqué qu'il est impossible d'obtenir des lignes d'imprégnation intercellulaire dans l'épiderme, et on en avait conclu que le ciment intercellulaire y fait défaut. Cette conclusion était légitime. En effet, on sait aujourd'hui d'une manière certaine que ce ciment n'existe pas. Les cellules du corps muqueux de Malpighi sont unies entre elles d'une façon beaucoup plus solide et plus intime que si elles étaient simplement soudées par un ciment, parce qu'elles sont reliées les unes aux autres par des filaments d'union (voy. p. 210). Entre ces filaments, il reste des espaces occupés par un liquide qui n'est autre chose que du plasma nutritif. Les premières observations relatives à ces espaces ont été faites par Bizzozero ainsi que nous l'avons fait remarquer dans la première édition de cet ouvrage ; mais la première observation relative aux filaments d'union et à la structure filamenteuse des cellules elles-mêmes nous appartient. La formation des épithéliums a été suivie dans tous ses détails par les embryologistes. Ces épithéliums, une fois constitués, s'accroissent pour recouvrir des surfaces qui s'agrandissent au fur et à mesure du développement par la formation incessante de nouvelles cellules, aux dépens des anciennes, par le procédé de la division indirecte.

Dans la division indirecte des cellules, ainsi que Flemming l'a fait remarquer avec juste raison, le noyau et le protoplasma qui l'entoure sont solidaires à un degré tel que la division de la cellule se produit en même temps que celle du noyau, de telle sorte que l'on ne doit pas considérer comme devant se diviser nécessairement une cellule qui contient deux noyaux à l'état de repos. Si cette cellule se divise ultérieurement, il faut que ses

noyaux deviennent actifs et montrent à nouveau tous les phénomènes karyokinétiques. On peut faire même, à ce sujet, une observation vraiment curieuse. Dans l'épithélium de la muqueuse buccale du rat, presque toutes les cellules contiennent deux noyaux. Or, c'est seulement dans la première rangée de l'épithélium stratifié de la bouche que se fait la formation de nouvelles cellules : dans les autres rangées, elle ne se produit plus.

Les recherches de M. Henneguy sur les figures achromatiques des cellules de segmentation sont très intéressantes, parce qu'elles établissent que, dans la multiplication des cellules par division indirecte, le rôle principal, celui qui commence la scène, appartient au protoplasma, puisque les rayons de l'aster s'édifient avant qu'on n'observe encore aucune modification karyokinétique du noyau.

Nous avons vu, en étudiant la multiplication par division directe des cellules lymphatiques, que le protoplasma, par ses mouvements intérieurs, a une action très considérable sur la segmentation du noyau. Le moment n'est pas encore venu de pousser plus loin la comparaison des deux genres de de division des cellules et de chercher tout ce qu'ils ont de commun et par conséquent la loi qui les régit.

CHAPITRE IV

TISSU CARTILAGINEUX

Nous ferons précéder l'étude pratique du tissu cartilagineux de quelques mots sur son développement, ses caractères et sa classification.

Chez l'homme, le tissu cartilagineux apparaît entre la sixième et la huitième semaine[1]; il se produit d'abord dans la colonne vertébrale.

Pour se rendre compte de la manière dont il s'y présente, la méthode à suivre consiste à faire, sur des embryons durcis dans l'alcool, des coupes longitudinales et antéro-postérieures, passant par l'axe des vertèbres; ces coupes sont colorées au picrocarminate et examinées dans la glycérine.

Chez un embryon humain très jeune, ces préparations, si elles comprennent une longueur suffisante de la colonne vertébrale, montrent les corps vertébraux et les disques intervertébraux composés les uns et les autres de tissu cartilagineux embryonnaire dont les cellules sont colorées en rouge d'une manière plus ou moins intense, tandis que la substance intercellulaire est incolore ou à peine colorée. Les portions de la colonne vertébrale qui correspondent aux disques intervertébraux forment des bandelettes transversales plus vivement colorées que le corps des vertèbres. A cette époque de la vie, les corps des vertèbres et les disques intervertébraux sont égale-

1. *Kölliker*, Entwicklungsgeschichte des Menschen, 1861, p. 185.

ment formés de tissu cartilagineux; seulement, dans les disques, les cellules sont plus nombreuses et plus rapprochées, et c'est à cela que tient la différence dans l'intensité de la coloration. La transformation fibreuse du disque se produira ultérieurement.

Dans la même coupe longitudinale se montrent des restes de la corde dorsale; ils forment comme un chapelet qui serait disposé longitudinalement dans l'axe de la colonne vertébrale; les parties renflées se trouvent au milieu des disques intervertébraux et sont reliées les unes aux autres par des parties amincies et presque filiformes.

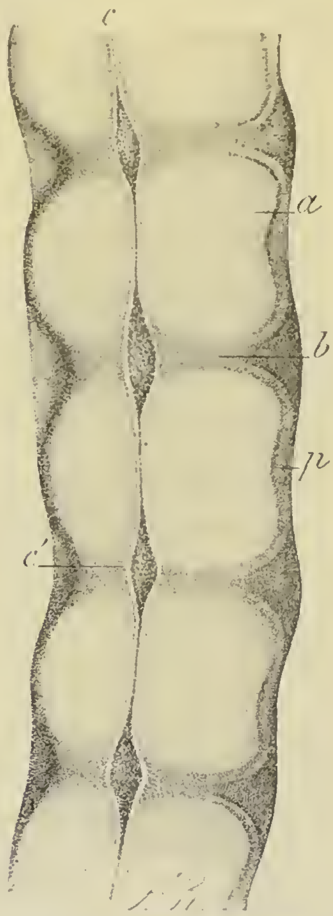


Fig. 95. — Colonne vertébrale d'un embryon humain. Coupe longitudinale après durcissement dans l'alcool. — *a*. corps vertébral; *b*. disque intervertébral; *p*. périchondre; *c*. corde dorsale; *c'*. renflement de la corde dorsale au niveau des disques. — 27 diam.

Plusieurs auteurs, Kölliker entre autres, pensent que l'on doit considérer la corde dorsale elle-même comme du tissu cartilagineux, ou du moins qu'elle se transforme plus tard en ce tissu. Il n'en est rien. En effet si l'on examine à un grossissement suffisant les vestiges de la corde dorsale, on y observe, non pas du tissu cartilagineux, mais un tissu formé de cellules claires, rondes ou légèrement modifiées dans leur forme par pression réciproque, ne contenant à leur centre ni protoplasma granuleux, ni noyau. Chacune d'elles cependant possède un noyau, mais celui-ci est logé dans la paroi cellulaire et se présente sur la coupe comme un corps coloré en rouge, en forme de bâtonnet lorsqu'il est vu de profil, et ovalaire quand il est vu de face sur la paroi supérieure ou inférieure de la cellule. Il est du reste facile d'isoler par dissociation les cellules de la corde dorsale chez de jeunes poissons et chez les têtards de grenouille, après avoir fait macérer le tissu pendant vingt-quatre heures dans le sérum iodé ou dans l'alcool au tiers.

Chez les têtards, les cellules de la corde isolées se montrent sous la forme d'une vésicule dont la membrane d'enveloppe est d'une grande minceur et se plisse facilement. Lorsqu'elles flottent librement dans le liquide, il est facile de reconnaître que le noyau y est logé à la périphérie dans une couche de protoplasma.

Quoique la corde dorsale ne participe pas à la formation du cartilage, c'est autour d'elle que se développe d'abord le tissu cartilagineux. Les vertèbres primitives, composées uniquement de cellules embryonnaires, apparaissent à une période qui varie suivant les animaux, et plus tard elles forment les vertèbres permanentes; c'est dans ces dernières [1] qu'apparaît, à la fin de la sixième semaine chez l'homme, entre les cellules qui les com-

1 A propos de l transformation des vertèbres primitives en vertèbres permanentes,

posent, une substance qui les sépare peu à peu les unes des autres et que l'on nomme substance fondamentale du cartilage. Dans la préparation dont nous avons parlé tout d'abord, cette substance fondamentale ou substance cartilagineuse se voit nettement entre les cellules qui, du reste, ne diffèrent en rien des cellules embryonnaires. Ce tissu porte le nom de *cartilage embryonnaire*.

A mesure que la substance fondamentale se développe, les cellules sont pressées les unes contre les autres et prennent des formes anguleuses causées par cette pression. On donne à ce cartilage le nom de *cartilage fœtal*. Il ne diffère du précédent que par la forme des cellules et la quantité plus considérable de substance intercellulaire.

A une certaine période du développement, tout le squelette est constitué par du cartilage. Chez quelques espèces animales, la transformation s'arrête là, et le squelette demeure cartilagineux pendant toute la vie ; tels sont, par exemple, les mollusques céphalopodes et les poissons cartilagineux. Chez ces derniers, ce tissu peut s'infiltrer de matière calcaire, mais il ne devient pas osseux. Chez l'homme, quand le développement est complet, il ne se trouve plus de cartilages dans le squelette qu'aux extrémités articulaires des os (symphyses et diarthroses). Il y en a encore dans quelques autres points du corps (oreilles, nez, épiglotte, trachée, bronches, etc.).

La cellule cartilagineuse ne possède aucun caractère distinctif ni dans sa forme, ni dans sa constitution chimique. Elle est toujours contenue dans une cavité qu'elle remplit complètement, et sa forme et ses dimensions sont en rapport avec celles de cette cavité. Elle peut être arrondie, aplatie ou anguleuse. Ses dimensions varient considérablement. Elle est constituée essentiellement par un noyau enveloppé d'une masse protoplasmique qui contient de la matière glycogène ou de la graisse, dans des conditions déterminées.

A l'état adulte, la cellule cartilagineuse forme autour d'elle-même une membrane cartilagineuse que l'on nomme la *capsule*, et dont on ne voit pas trace dans le cartilage embryonnaire. Dans les cartilages où la substance fondamentale est fibreuse, c'est cette capsule seule qui donne le caractère cartilagineux au tissu.

Classification du tissu cartilagineux. — Suivant la nature de la substance fondamentale, les cartilages ont été divisés en :

Cartilage hyalin, où la substance fondamentale est homogène, transparente comme du verre ;

Remak *Untersuchungen über die Entwickelung der Wirbelthiere*, p. 45, comparez His : *Untersuch. über die erste Anlage*, etc., 1868, p. 178) a observé chez le poulet un fait singulier ; chacune des vertèbres primitives se divise en deux moitiés vers sa partie moyenne suivant un plan de segmentation transversal; la moitié postérieure de l'une de ces vertèbres s'unit à la moitié antérieure de la vertèbre voisine pour former la vertèbre permanente. Ce qui prouve qu'il en est réellement ainsi, c'est que, dans la vertèbre, primitive, le bourgeon nerveux se trouve au milieu de la hauteur de la vertèbre, tandis que, plus tard, on le voit situé à l'interstice de deux vertèbres permanentes consécutives. Du reste, cette question n'est pas encore complètement résolue, car il n'y a pas le même nombre de vertèbres primitives et de vertèbres permanentes.

Cartilage fibreux, où la substance fondamentale est composée de fibres connectives, à l'exception des capsules;

Cartilage élastique ou *réticulé*, où la substance intercapsulaire contient un réseau de fibres élastiques très serrées.

On pourrait ajouter à ces espèces le *cartilage calcifié*, où la substance fondamentale est infiltrée de granulations calcaires. Cependant il ne s'agit pas ici d'une espèce histologique, car si l'on dissout ces granulations par l'acide chlorhydrique, l'acide picrique ou l'acide chromique, la masse cartilagineuse qui reste présente les caractères du cartilage hyalin.

ÉTUDE PRATIQUE DU TISSU CARTILAGINEUX

On rencontre chez les animaux des cartilages dont la minceur est telle qu'en les examinant à plat, sans leur faire subir de sections, on peut en faire l'étude. Tels sont, par exemple, la sclérotique de la grenouille et les ailerons de l'appendice xyphoïde du même animal. Pour étudier ces derniers, après que l'on a incisé la peau et les muscles, il suffit de les couper avec des ciseaux et de les étaler sur une lame de verre. Les cellules cartilagineuses y apparaissent nettement.

Quant aux cartilages plus épais de la grenouille, et à ceux de l'homme et des mammifères, par exemple ceux de la trachée, du larynx, de l'oreille, de la cloison des fosses nasales et des articulations, il est indispensable pour les étudier d'y faire des coupes.

Ces coupes peuvent être exécutées sur le tissu frais; la consistance du tissu cartilagineux permet en effet de les pratiquer très facilement, sans que le cartilage ait été préalablement soumis à l'action des réactifs durcissants. Comme ces coupes sont transparentes, on est facilement trompé sur leur épaisseur et porté à croire qu'on les fait beaucoup plus minces qu'elles ne sont en réalité. Il faut donc s'appliquer à les faire aussi minces que possible.

Nous allons étudier maintenant l'action des différents réactifs sur le tissu cartilagineux.

Action de l'eau. — Prenons pour exemple un objet que tout histologiste a généralement à sa disposition : la tête d'un fémur de grenouille tout à fait frais. Sur la surface arrondie du cartilage dont cette tête est recouverte, commençons par affranchir avec un rasoir une surface plane; par une seconde coupe bien parallèle à la première, détachons une fine lamelle de cartilage, et portons-la rapidement dans une goutte d'eau mise préalablement sur la lame de verre.

La préparation recouverte d'une lamelle présente à considérer des cellules qui possèdent un noyau à double contour et un nucléole; quelques-unes ont deux noyaux. Elles sont constituées par une masse de protoplasma transparent, autour de laquelle on distingue un double contour, représentant la coupe optique de la capsule.

En continuant l'examen de cette préparation, il est facile de remarquer

que le tissu ne présente pas longtemps le même aspect; bientôt la masse cellulaire revient sur elle-même, et l'eau pénètre dans la capsule. Sur les bords de la cellule, qui étaient d'abord réguliers et nets, on aperçoit comme un collier de grains. En examinant ce bord avec un objectif à grand angle d'ouverture, il est aisé de reconnaître que ce qui paraît des grains est en réalité une sorte de feston dessiné sur le bord de la capsule par le retrait du protoplasma. Dans certains points disposés assez régulièrement, le protoplasma adhérent à la capsule y reste fixé, tandis que, dans les intervalles, il se retire, en formant des courbes dont la concavité regarde la capsule. C'est ce qui produit cet aspect festonné du bord de la cellule. Au bout de quelques heures, la rétraction est achevée, et il ne se montre plus dans l'intérieur de la capsule qu'une masse ratatinée dans laquelle on ne voit rien de net.

Les modifications que détermine l'eau dans les cellules du cartilage sont, comme nous venons de le voir, si considérables, que l'examen du cartilage après l'action de ce réactif ne donne plus qu'une notion fort inexacte du tissu cartilagineux normal.

Préparations sans réactif. — Pour faire une bonne préparation d'étude, il faut prendre un cartilage tout frais, affranchir avec le rasoir sec une surface plane et faire une seconde section bien parallèle à la première. La coupe de cartilage détachée est rapidement mise sur la lame, immédiatement recouverte de la lamelle, et la préparation est bordée avec de la paraffine. Toute cette opération doit être faite le plus rapidement possible pour éviter la dessiccation. L'évaporation est empêchée par la bordure de paraffine, et le cartilage se trouve plongé dans son propre plasma. Tout cartilage frais contient généralement assez de liquide pour que la coupe disposée ainsi soit en réalité dans un milieu humide. La réussite se reconnaît à ce que le tissu prend entre les deux lames de verre une teinte bleuâtre; cette teinte indique qu'il n'y a pas d'air interposé et que le liquide remplit bien tout l'espace. Dans les points où il se trouve de l'air, le tissu paraît blanc lorsqu'il est regardé à la lumière réfléchie. Ces points ne sont pas propres à l'observation microscopique, à cause des jeux de lumière variés que produit la présence de l'air. Mais, dans toute préparation, il se trouve des espaces à teinte hyaline, et par conséquent sans air interposé, assez étendus pour permettre une bonne observation.

Dans ces espaces, se montrent les cellules de cartilage formées par une masse de protoplasma et un noyau bien net (fig. 96). Chacune de ces cellules remplit exactement la capsule qui la contient. A côté de ces éléments, on rencontre habituellement des capsules renfermant des cellules ratatinées. D'autres capsules sont vides, c'est-à-dire, ne contiennent pas d'éléments cellulaires du tout. Quelques histologistes en ont conclu qu'il existe deux espèces de capsules; les unes qui renferment des cellules, d'autres qui n'en possèdent pas. Il n'en est rien. En examinant la préparation avec un objectif à grand angle d'ouverture, il est aisé de se convaincre que les capsules des deux dernières espèces se trouvent à la surface, tandis que les premières sont dans la profondeur. De plus, en soulevant un peu la lamelle pour la

réappliquer ensuite, on voit quelquefois les capsules, qui étaient vides auparavant, contenir une bulle d'air qui s'y est nichée (A, fig. 97). C'est une preuve que ces capsules sont ouvertes, puisque l'air peut y entrer; elles ont été coupées par le rasoir, et leur contenu a été enlevé. On constate de même que les capsules à cellules ratatinées sont des capsules ouvertes situées à la surface de la préparation. C'est donc là la circonstance qui les fait différer des autres et qui a déterminé le ratatinement de leurs cellules.

Dans le cas où la préparation a été faite sans addition d'aucun liquide, la rétraction des cellules dans les capsules ouvertes n'a pu être causée par

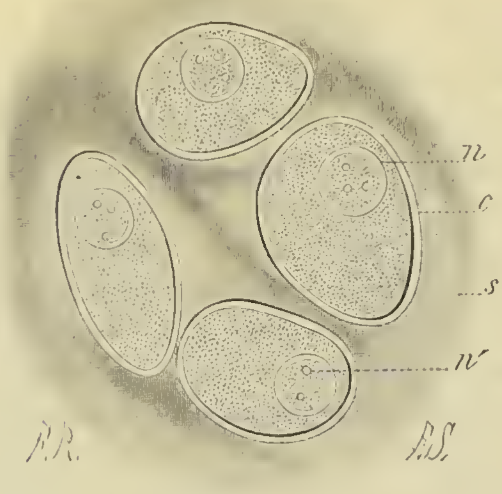


Fig. 96. — Cartilage de la tête du fémur de la grenouille, examiné sans liquide additionnel. — *s*, substance fondamentale; *c*, capsule; *n*, noyau; *n'*, nucléole. — 600 diam.

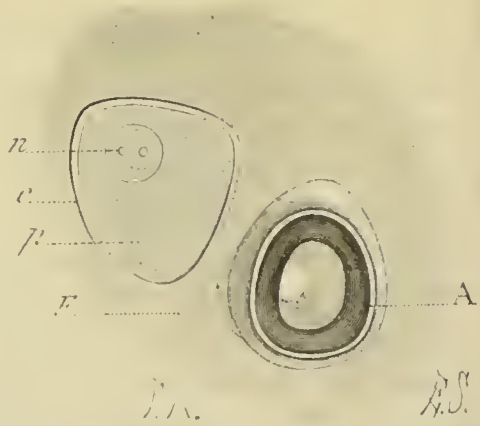


Fig. 97. — Cartilage de la tête du fémur de la grenouille, examiné sans aucun liquide additionnel. Une capsule, ouverte sur la surface de coupe, contient une bulle d'air A; F, substance fondamentale; *c*, capsule; *p*, protoplasma cellulaire; *n*, noyau avec deux nucléoles. — 600 diam.

l'action d'un réactif; elle s'est produite spontanément. Il faut donc admettre qu'à l'état normal la cellule ne remplit toute la cavité que par suite d'un vide virtuel, analogue à celui qui maintient le poumon appliqué sur la plèvre pariétale. Cette cellule aurait une tendance naturelle à se rétracter et à abandonner une partie du liquide qui l'imbibe, dès qu'elle est soumise à la pression atmosphérique.

Une fois ratatinée, la cellule ne change plus de forme; elle ne présente pas de mouvements amiboïdes [1].

Action du sérum du sang. — On peut observer la plupart de ces phénomènes dans des coupes de cartilage examinées dans le sérum du sang. Pour faire cette étude, on reçoit le sang qui s'écoule du cœur d'une grenouille (voy. p. 152) dans un verre de montre, et on le laisse se coaguler. Le sérum se sépare. Une ou deux gouttes de ce sérum, qui contient encore des globules

1. *Virchow* (Ueber bewegliche thierische Zellen, *Virchow's Arch.*, t. XXVIII, 1863, p. 237) a signalé, dans les chondromes, des cellules susceptibles de changer de forme et de pousser des prolongements semblables à ceux des cellules lymphatiques. Mais cette observation, faite sur les tissus de l'homme à la température ordinaire, laisse subsister dans l'esprit du lecteur un certain doute. Pour ma part, je n'ai jamais vu, dans les cellules ramifiées des chondromes, des changements de forme que l'on puisse attribuer à des mouvements amiboïdes.

rouges en suspension, sont déposées sur une lame de verre; puis, de la tête du fémur de la même grenouille, on enlève avec un rasoir humecté de sérum, une série de coupes qui sont placées immédiatement sur la lame. Après addition d'une lamelle et fermeture à la paraffine, on obtient une préparation qui, examinée de suite, montre à la surface des coupes des capsules ouvertes, vides ou contenant des cellules ratatinées et anguleuses. Dans les premières vient parfois se nicher un globule rouge du sang qui, pour la démonstration de l'ouverture de la capsule, joue le même rôle que la bulle d'air dont il a été question précédemment. Les capsules qui n'ont pas été ouvertes sont remplies exactement par leur cellule.

Si cette préparation est abandonnée à elle-même pour être soumise à de nouveaux examens les jours suivants, on y observe qu'au bout de vingt-quatre, quarante-huit ou soixante-douze heures les cellules, qui remplissaient exactement les capsules au début, sont revenues sur elles-mêmes en conservant une forme globuleuse, tandis que les cellules qui se trouvaient dans les capsules ouvertes par la coupe sont restées anguleuses.



Fig. 98. — Coupe transversale du cartilage aryténoïde du chien adulte, faite après macération dans une solution d'acide osmique à 1 pour 500. — *s*, substance fondamentale, avec des grains élastiques: *n*, noyau: *r*, granulations graisseuses du protoplasma colorées en noir par l'osmium. — 500 diam

Dans ces préparations, pas plus que dans celles qui sont faites sans addition d'aucun réactif, on ne peut observer de mouvements amiboïdes.

Action du sérum iodé — Une coupe de cartilage hyalin frais, faites avec un rasoir sec et placée dans une goutte de sérum fortement iodé, présente des cellules cartilagineuses avec leurs noyaux nettement accusés. Si la préparation a été faite avec un cartilage de mammifère adulte, on remarque, à côté du noyau, des gouttelettes de graisse, reconnaissables à leur réfringence spéciale et qui ne sont pas colorées par le réactif. Lorsque la cellule contient de la matière glycogène, elle se colore en brun acajou, tandis que le noyau reste incolore. Les cellules se conservent pendant une heure à une heure et demie dans ce liquide, puis elles se ratatinent. Celles qui contiennent de la matière glycogène se déforment plus lentement que les autres. Le lendemain, toutes les cellules sont ratatinées, et la matière glycogène a disparu par diffusion.

Action de l'acide osmique. — L'acide osmique employé à la dose de 1 pour 500 et laissé pendant douze heures en contact avec le tissu (soit que le cartilage entier ait été plongé dans le réactif, soit que la coupe ait été faite à sec et mise ensuite dans la solution) manifeste très nettement la graisse dans l'intérieur des cellules par la coloration noire qu'il lui communique (*r*, fig. 98).

Au bout de douze heures, l'acide osmique doit être remplacé par l'eau phéniquée ou la glycérine, pour que la préparation soit persistante. Il faut remarquer cependant qu'elle perd de sa netteté avec le temps; la cellule se ratatine autour de la graisse, et l'on ne distingue plus dans la capsule qu'une masse irrégulière noirâtre.

Action de l'acide picrique, de l'alun, du sulfate de cuivre, etc. — L'acide picrique en solution aqueuse concentrée montre nettement le noyau et ne déforme que lentement la cellule. J'ai cru longtemps qu'il permettait seul de bien voir la cellule, en retardant sa rétraction : mais je me suis assuré depuis lors qu'il y a une série de réactifs qui ne ratatinent pas la cellule au début de leur action. Ainsi l'alun, à 5 pour 1000, le nitrate d'argent, à 1 pour 1000, le sulfate de cuivre, à 1 pour 100, le chlorure d'or, à 1 pour 200, le chlorure de sodium, à 1 pour 100, la potasse caustique, à 40 pour 100, conservent tous, pendant un temps plus ou moins long, la cellule dans sa forme. De tous ces réactifs, l'alun, dans la solution indiquée, est le meilleur; il permet de faire des préparations persistantes, où le cartilage se montre avec tous ses caractères physiologiques.



Fig. 99. — Cartilage diarthrodial de l'extrémité inférieure du fémur du veau. Coupe perpendiculaire à la surface, examinée dans une solution concentrée d'acide picrique; *s*, substance fondamentale; *c*, capsule; *p*, protoplasma cellulaire; *n*, noyau. — 500 diam.

Action des matières colorantes. — Parmi les réactifs colorants que l'on peut employer utilement dans l'étude des cartilages, il convient d'indiquer en première ligne la solution de purpurine (voy. p. 95) et l'hématoxyline nouvelle (voy p. 91).

Purpurine. — Pour colorer et fixer les éléments d'un cartilage, on en fait avec un rasoir sec des coupes minces qui sont reçues à mesure dans la solution de purpurine, dont la quantité doit être seulement de quelques centimètres cubes. Au bout de vingt-quatre ou quarante-huit heures, les coupes sont retirées, lavées à l'eau distillée et montées en préparations permanentes dans la glycérine.

Ces préparations montrent les noyaux des cellules cartilagineuses colorés en rouge, limités par un double contour et possédant chacun un ou plusieurs nucléoles. Le protoplasma cellulaire incolore remplit la capsule; la substance fondamentale est très légèrement colorée en rose.

Si l'on veut faire des préparations de sclérotique de la grenouille colorées par la purpurine, il suffit de détacher l'œil et de le placer dans la solution.

Vingt-quatre heures après, on enlève avec des ciseaux des fragments de la sclérotique qui, après avoir été lavés au pinceau dans de l'eau distillée, sont placés de nouveau dans la solution de purpurine. Lorsqu'ils y ont séjourné un ou deux jours, ils sont lavés de nouveau et montés en préparation dans la glycérine.

Dans ces préparations, la sclérotique dont la structure est celle du cartilage hyalin, présente plusieurs couches de capsules aplaties suivant sa surface. Entre la sclérotique et la cornée, il existe une zone fibreuse qui réunit les deux membranes. Pour se continuer avec cette zone fibreuse, la sclérotique s'amincit légèrement. A ce niveau, chez la grenouille verte, le protoplasma des cellules cartilagineuses contient des grains pigmentaires en nombre plus ou moins considérable. Il y a donc une variété de cartilage que l'on peut désigner sous le nom de cartilage pigmenté, comme il y a des épithéliums pigmentés et du tissu conjonctif pigmenté.



Fig. 100. — Coupe longitudinale du ligament rond et de la tête du fémur du chat adulte. Décalcification dans une solution concentrée d'acide picrique. Coloration avec la purpurine. F, cartilage fibreux ; K, cartilage fibreux calcifié ; *o*, tissu osseux ; *m*, canal vasculaire ; *f*, substance fondamentale fibreuse du ligament ; *c*, *c'*, capsules de cartilage ; *co*, corpuscules osseux. — 200 diam.

Les préparations de cartilage des mammifères, faites suivant le même procédé, sont moins belles, en ce sens qu'un certain nombre de cellules se sont ratatinées ; néanmoins elles sont encore meilleures que celles que l'on fait à l'aide d'autres méthodes. Pour obtenir un succès complet, il faut plonger la pièce pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans l'acide picrique en solution saturée avant de faire les coupes. Celles-ci sont colorées par la purpurine ou l'hématoxyline nouvelle, et conservées dans la glycérine (voy. fig. 100). Beaucoup d'autres matières colorantes peuvent être mises en usage pour l'étude du cartilage.

Iode. — L'iode doit être employé dans la solution que nous avons déjà indiquée et que nous reproduisons ici :

Eau distillée	100
Iodure de potassium	2
Iode	q.s.

Il doit y avoir des cristaux d'iode au fond du flacon.

La substance fondamentale est très faiblement colorée par ce réactif, excepté dans les cartilages fibreux et élastiques; le protoplasma se colore en jaune vif. La solution iodée sert donc à distinguer immédiatement le protoplasma cellulaire de la substance fondamentale; elle est très avantageuse dans les études d'anatomie pathologique, pour éviter la confusion que l'on a faite trop souvent des cellules avec les capsules. Ainsi, dans le rhumatisme articulaire chronique, il se produit de grandes capsules remplies de petites capsules. Redfern, Otto Weber et d'autres ont considéré ces capsules comme des cellules, et ils ont pris les cellules ratatinées pour des noyaux. On ne fera plus cette erreur si on traite le tissu par la solution iodée.

Carmin. — Le carmin colore mal le tissu cartilagineux. Employé en solution neutre ou ammoniacale sur du cartilage frais, il ne présente aucun avantage. Tout est coloré; le noyau ne se remarque que comme une tache plus foncée, sans que les contours en soient distincts.

Le picrocarminate doit être employé après que les éléments ont été fixés soit par l'acide picrique, soit par l'alcool. Il donne surtout de bons résultats dans l'étude du cartilage réticulé.

Hématoxyline. — La solution d'hématoxyline préparée par le procédé de Boehmer (voy. p. 91) colore la substance fondamentale en violet ainsi que le noyau des cellules.

L'hématoxyline nouvelle (voy. p. 91) colore également les noyaux en violet foncé et la substance intercellulaire en violet clair.

Bleu de quinoléine. — J'ai employé le bleu de quinoléine (voy. p. 89) en solution dans l'alcool absolu. Sous l'influence de ce réactif, les cellules ne se rétractent que là où les capsules ont été ouvertes. Dans les autres on distingue le noyau qui demeure incolore. Les cellules sont colorées en bleu clair, la substance fondamentale en violet. La coloration résiste à la potasse. Sous l'action combinée de la potasse et du bleu, la couleur se fixe sur les gouttelettes de graisse, qui deviennent d'un bleu intense.

Nitrate d'argent. — Le nitrate d'argent peut servir à déterminer la limite des cavités capsulaires. Voici comment il faut s'en servir. Après avoir lavé à l'eau distillée un cartilage, la tête d'un fémur de grenouille par exemple, on le plonge dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500, jusqu'à ce qu'il devienne opaque. Il est alors retiré, et placé dans l'eau distillée pendant quelques minutes. Si alors on enlève de la surface une coupe mince, elle présente une face convexe (celle de la surface du cartilage) et une face plane. Pour obtenir des coupes qui aient les deux faces planes, il faut avant de mettre le fémur dans le bain d'argent, affranchir avec un rasoir trempé dans l'eau distillée une surface sur la tête de l'os, puis plonger la pièce dans le bain, et enlever ensuite la couche que l'argent a imprégnée et durcie.

Chlorure d'or. — Le chlorure d'or s'emploie en solution à 1 pour 200. Il faut y plonger de tout petits blocs de cartilage qui n'aient pas plus de 3 à 4 millimètres de côté. Au bout de sept à quinze minutes, ils ont pris une teinte jaune paille ; on les transporte alors dans l'eau distillée pour les laver.

puis dans une solution très faible d'acide acétique (une goutte pour 50 grammes). Exposés à la lumière, ils deviennent violets après un temps variable, et c'est alors qu'il faut en faire des coupes.

Dans les préparations obtenues à l'aide de ce procédé, les cellules ne sont pas ratatinées, et les noyaux sont très nets. Mais au bout de peu de temps, ces préparations conservées dans la glycérine deviennent obscures; la glycérine ratatine les cellules et les rend granuleuses; les noyaux disparaissent dans une partie d'entre elles; le protoplasma, au contraire, devient d'un violet plus intense, et se distingue très nettement de la substance fondamentale. Ces préparations peuvent donc être utiles, comme celles que l'on fait avec l'iode, pour distinguer les capsules des cellules.

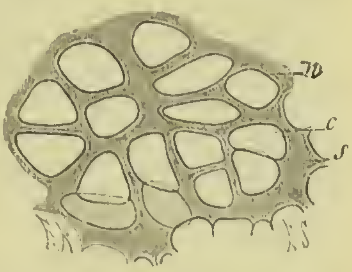


Fig. 101. — Coupe du cartilage de la tête du fémur de la grenouille. — Imprégnation d'argent.

De quelques préparations de cartilage en particulier. — Lorsque l'on veut étudier une pièce entièrement cartilagineuse, par exemple un cartilage costal, ou bien un cartilage fœtal ou embryonnaire, il suffit d'en faire des coupes à main libre, que l'on examine dans l'eau. Mais les préparations ne se conservent pas. Pour en faire de durables, il faut que le cartilage ait été soumis préalablement à l'action d'un réactif : alun, liquide de Müller, acide chromique, acide picrique, etc. Alors les coupes que l'on en fait se conservent dans l'eau additionnée de 1 pour 100 d'acide phénique ou encore dans un mélange d'eau et de glycérine. Lorsque la préparation est destinée à être colorée, il vaut mieux la durcir dans l'acide picrique.

Cartilage réticulé. — Les cartilages réticulés ou élastiques sont formés de diverses parties de consistance différente, de telle sorte qu'il est fort difficile d'y pratiquer des coupes à l'état frais. Il est nécessaire pour obtenir de bonnes préparations de faire durcir auparavant le tissu, afin de lui donner une consistance plus égale. A cet effet, le cartilage est plongé d'abord dans l'alcool à 90° pendant vingt-quatre heures, puis monté dans la moelle de sureau. Les coupes colorées au picrocarminate et conservées dans la glycérine montrent le périchondre coloré en rouge par le carmin; les capsules du cartilage présentent dans leur intérieur les cellules colorées en rose avec leurs noyaux un peu plus foncés. La substance fondamentale incolore est parcourue dans toutes les directions par des fibres élastiques, colorées en jaune par l'acide picrique. Elles se prolongent dans le périchondre et dans le tissu conjonctif voisin. La coloration jaune produite par l'acide picrique est une des réactions de la substance élastique; nous aurons l'occasion d'y revenir. Quant au mode de formation des fibres élastiques dans la substance fondamentale du cartilage, nous en parlerons à propos du développement du tissu élastique.

Cartilages articulaires. — Si le cartilage repose sur un os, il est aisé d'en faire des coupes parallèles à la surface; mais si l'on veut y pratiquer des coupes perpendiculaires on risque de rencontrer le tissu osseux et d'ébré-

cher le rasoir. Aussi vaut-il mieux détacher d'abord au couteau une lame de cartilage, la monter dans de la moelle de sureau et ensuite faire les coupes. Il est quelquefois intéressant de conserver le tissu osseux sous-jacent pour voir ses rapports avec le cartilage. Il faut alors détacher avec une scie une portion de la tête de l'os, comprenant le cartilage et une lame mince de tissu osseux, ce fragment est mis à macérer dans l'acide picrique en solution saturée pendant plusieurs jours. L'os se décalcifie, et les coupes comprenant le cartilage et l'os sont faciles à faire (fig. 100).

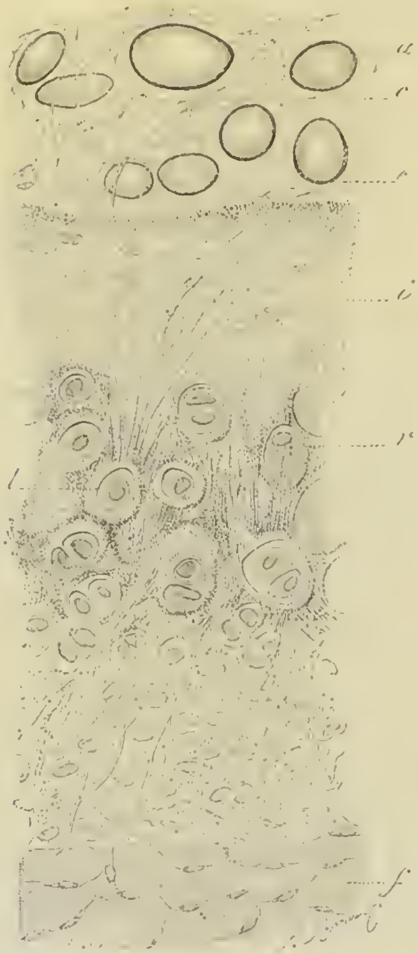


Fig. 102. — Coupe transversale de l'épiglotte du chien, faite après durcissement par l'alcool, colorée par le picrocarminate et conservée dans la glycérine. — *a*, cellules adipeuses; *c*, tissu conjonctif diffus; *e*, fibres élastiques; *i*, couches superficielles du cartilage avec petites cellules; *r*, portion centrale avec de grandes capsules, *l*, et une substance fondamentale contenant des fibres et des grains élastiques; *f*, faisceaux du tissu conjonctif coupés en travers. — 170 diam.

Un cartilage diarthrodial de l'homme adulte, étudié dans des coupes faites perpendiculairement à sa surface sur la pièce fraîche ou après séjour de celle-ci dans l'acide picrique, et colorées à l'aide de l'un des réactifs dont il a été question, montre plusieurs couches. A la surface se trouvent des capsules lenticulaires, aplaties suivant la direction de la surface articulaire, disposées sur deux, trois, quatre ou un nombre plus considérable de rangées, suivant les cartilages que l'on examine. Au-dessous de cette première couche (en s'éloignant de la surface) il en existe une seconde, caractérisée par des capsules arrondies. Une troisième couche, plus épaisse que les autres, est formée par des capsules allongées dans une direction perpendiculaire à la surface, et dans leur intérieur sont groupées en séries linéaires des capsules secondaires contenant chacune une cellule. Une quatrième couche, qui sert d'union entre le cartilage hyalin et l'os, est formée de cartilage calcifié.

Nous avons donc dans tout cartilage diarthrodial quatre couches distinctes : 1° la couche superficielle à capsules lenticulaires; 2° la couche à capsules sphériques; 3° la couche à capsules primitives à direction perpendiculaire à la surface; 4° la couche calcifiée. Un peu plus loin, à propos de l'étude du cartilage à la lumière polarisée, nous aurons à revenir sur ces quatre couches.

Les anciens anatomistes croyaient que les cartilages diarthrodiaux étaient constitués par des fibres. Ils se fondaient sur l'expérience suivante :

Un os long, coupé en travers un peu au-dessus de l'épiphyse, est ensuite scié dans sa longueur jusqu'au cartilage ; les deux segments divisés par la scie sont alors écartés l'un de l'autre et le cartilage est déchiré. Ce cartilage ainsi divisé montre des stries perpendiculaires à la surface et parallèles entre elles, qui simulent des fibres. Mais cet état fibrillaire ne s'étend pas jusqu'à la surface, et très souvent la déchirure se termine par des lambeaux minces, irréguliers, déchiquetés sur leurs bords.

Cette observation histologique, faite sans le secours du microscope, pouvait faire croire en effet que le cartilage est constitué par des fibres, sauf cependant dans les couches les plus superficielles. L'observation microscopique rend parfaitement compte de cette erreur. Dans la troisième couche du cartilage, celle qui est formée par des capsules allongées disposées en séries perpendiculaires à la surface, la déchirure doit se faire naturellement suivant la direction de ces éléments et produit l'aspect fibrillaire. Quant aux lambeaux enlevés à la superficie, ils proviennent de la couche à cellules lenticulaires dont la direction générale est parallèle à la surface.

Étudions maintenant un de ces lambeaux au microscope, après l'avoir traité par la solution d'iode. Nous y observons des capsules limitées par un bord circulaire. Cette observation démontre que les capsules superficielles qui, de profil, paraissent aplaties sont en réalité lenticulaires. La paroi de ces capsules est généralement très épaisse ; elle est formée de plusieurs couches concentriques. Réunies en un certain nombre, ces capsules forment des groupes bien distincts [1].

Cartilage à cellules ramifiées. Chez les céphalopodes (poulpe, seiche, calmar), il existe un cartilage cranien dont la structure, étudiée depuis longtemps par divers histologistes, Queckett [2], Kölliker [3], Hensen [4], et, plus tard, par F. Boll [5], présente des particularités d'autant plus intéressantes qu'une forme histologique analogue s'observe souvent chez l'homme dans les chondromes. J'ai eu l'occasion d'étudier ce cartilage chez les poulpes, les seiches et les calmars; c'est ce dernier animal qui m'a fourni les plus belles préparations. Pour les faire, j'ai employé différents liquides modificateurs : l'alcool, le bichromate de potasse, l'acide picrique. Mais, de toutes les méthodes, celle qui m'a donné les meilleurs résultats (après la coloration par l'iode qui ne peut servir que pour des préparations

1. Si je me suis étendu aussi longuement sur la disposition des cartilages diarthrodiaux, c'est que toutes ces particularités d'histologie normale doivent être bien connues de tous ceux qui veulent étudier les altérations pathologiques du rhumatisme articulaire et des tumeurs blanches.

2. *Queckett*, Catalogue of the histological series in the Museum of the Royal College of Surg., 1850, vol. I, p. 102, pl. VI, fig. 1.

3. *Kölliker*, Traité d'histologie, 2e édit. française, p. 85.

4. *Hensen*, Ueber das Auge einiger Cephalopoden. (*Zeitschr. für wissensch. Zoologie*, 1865, vol. XV, p. 169.)

5. *Boll*, Beitr. zur vergleich. Histiologie des Molluskentypus. (*Arch. für mikrosk. Anatom.* Supplément 1869, p. 14 et 15.)

temporaires) est la suivante : des coupes faites au rasoir sont placées pendant une heure ou deux dans le picrocarminate à 1 pour 100 et ensuite montées en préparations permanentes dans la glycérine.

En beaucoup de points, les cellules du cartilage sont disposées par petits groupes ou îlots distincts. Les cellules qui forment un de ces groupes, quel que soit du reste leur nombre, envoient des prolongements ramifiés, seulement par celle de leurs faces qui sert de limite à l'îlot (fig. 105). Ces prolongements sont formés par du protoplasma granuleux semblable à celui de la cellule elle-même et ils s'anastomosent entre eux de manière à constituer un véritable réseau. Ce réseau, examiné dans des préparations colorées au picrocarminate, est très apparent, parce qu'il est coloré en rouge, tandis que la substance cartilagineuse est incolore ou à peine colorée. Dans les coupes traitées par la solution d'iode, il est coloré en brun et se montre aussi avec netteté. Le tissu cartilagineux à cellules ramifiées présente un certain intérêt parce qu'il sert d'intermédiaire entre le cartilage ordinaire, le tissu osseux qui contient aussi des cellules étoilées à ramifications anastomotiques et le tissu muqueux qui n'en diffère que par la nature de la substance intercellulaire[1].

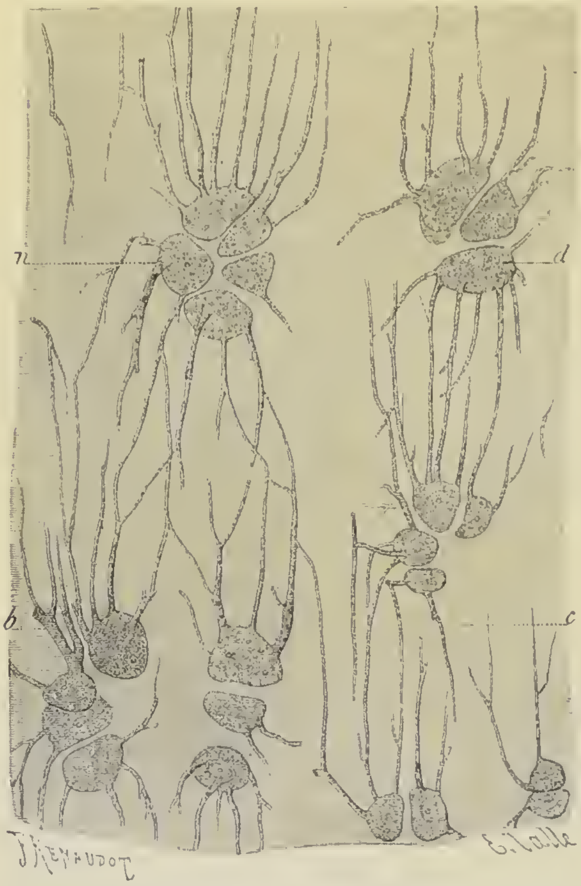


Fig. 105. — Cartilage de la tête du calmar examiné dans le picrocarminate et la glycérine. — *c*, substance fondamentale; *d*, cellules de cartilage; *b*, ramifications anastomotiques de ces cellules. — 400 diam.

Périchondre. — Dans les cartilages diarthrodiaux, le tissu cartilagineux se continue jusqu'à la surface articulaire; mais sur les bords de l'articulation ces cartilages possèdent un revêtement fibreux. Un revêtement semblable s'observe tout autour des cartilages du larynx, de la trachée, des bronches et de tous ceux qui ne font pas partie des articulations. Cette enveloppe fibreuse, qui porte le nom de *périchondre*, ne constitue pas au cartilage une coque indépendante. Lorsqu'on cherche à

1. Quelques histologistes ont pensé que tous les cartilages hyalins présentent une structure analogue. *Bubnoff*, Beitr. zur Kenntniss der Structur des Knorpels (*Comptes rendus de l'Académie de Vienne*, 1868), en examinant des coupes faites sur des fragments de cartilage hyalin ayant séjourné dans l'acide osmique à 1 pour 4000, pendant 8 à 12 heures, prétend avoir vu de petits canaux très fins distribués régulièrement dans la substance fondamentale. Nous avons vainement tenté de faire la même observation en employant exactement la même méthode.

l'arracher, elle résiste, et on n'arrive à la séparer qu'en déchirant son tissu ou celui du cartilage sous-jacent.

Ce mode d'union si solide du périchondre et du cartilage peut être facilement étudié dans des coupes qui comprennent les deux tissus à l'état frais ou traités par l'acide chromique, l'acide picrique ou l'alcool. A la limite du cartilage, les capsules sont allongées et paraissent fusiformes. Entre ces capsules, disposées à peu près parallèlement, se trouvent des bandes de substance fondamentale. En suivant ces bandes, il est aisé de les voir sortir du cartilage proprement dit et pénétrer dans le périchondre, dont elles forment les fibres. Des capsules de cartilage se voient encore, avec tous leurs caractères, dans les couches les plus profondes du périchondre, entre les fibres duquel elles sont disposées. Dans des couches plus superficielles, il ne se trouve plus entre les fibres du périchondre que des cellules de tissu conjonctif.

Dans le cartilage réticulé, les fibres élastiques (fig. 102) comprises entre les capsules se poursuivent jusqu'au périchondre; elles s'y continuent et le traversent même pour gagner le tissu conjonctif voisin.

Vaisseaux des cartilages. — Au moment où un cartilage se forme dans le tissu embryonnaire, il ne présente pas de vaisseaux, alors que sa structure le fait déjà reconnaître, et qu'il se trouve beaucoup de vaisseaux dans le tissu conjonctif avoisinant. C'est plus tard, et seulement dans les cartilages qui subissent l'ossification, que l'on voit partir du périchondre de petits bourgeons vasculaires qui pénètrent le tissu cartilagineux.

Pour bien étudier ce développement il est nécessaire d'injecter les vaisseaux sanguins. L'opération est délicate, parce que chez l'embryon les vaisseaux n'ont pas leurs parois solides comme chez l'adulte. Aussi est-il rare d'obtenir des injections sans ruptures. Il faut employer le bleu de Prusse soluble parce qu'il ne diffuse jamais; s'il s'en trouve en dehors des vaisseaux, c'est qu'ils ont été déchirés.

Les vaisseaux du cartilage sont contenus dans des canaux sinueux. Le tissu cartilagineux qui borde ces canaux est formé d'une substance fondamentale plus dense et de capsules aplaties. C'est la disposition que l'on observe à la surface de tous les cartilages. Les vaisseaux n'occupent pas complètement les canaux qui les contiennent. L'espace laissé libre est rempli d'un tissu spécial connu sous le nom de moelle du cartilage. Cette moelle est constituée par des cellules lymphatiques et des cellules de tissu conjonctif, voire même quelquefois par des fibres de ce tissu.

Observation des cartilages à la lumière polarisée. — On admet généralement, depuis les travaux de Brücke, qu'une substance qui possède la double réfraction est d'une autre nature que celle qui ne possède que la simple réfraction (voy. *Polarisation*, p. 55), et on note pour chaque tissu, s'il est monoréfringent ou biréfringent.

Chez l'embryon, les cartilages possèdent tous la réfraction simple. En d'autres termes, quand les deux nicols sont croisés et que le champ est obscur, la préparation est obscure aussi, et, dans quelque sens qu'on la

tourne, elle ne rétablit pas la lumière. Il en est ainsi, quel que soit le mode de préparation que l'on ait employé.

Chez les animaux adultes, il en est tout autrement. Étudions un cartilage diarthrodial de l'homme ou de tout autre mammifère sur une coupe perpendiculaire à la surface, placée dans l'eau ou montée dans le baume du Canada. Les deux nicols étant croisés, le cartilage rétablira la lumière dans deux positions perpendiculaires l'une à l'autre, comme le ferait un tendon, une fibre musculaire ou un poil vus suivant leur longueur. Seulement le rétablissement de la lumière ne se fait pas dans toutes les parties du cartilage, et, dans celles où il se montre, il se fait inégalement. Ainsi, dans la préparation de cartilage orientée de manière à avoir le maximum d'intensité lumineuse (fig. 104), nous observons, immédiatement au-dessous de la surface, une bande claire qui correspond à la couche des capsules lenticulaires, puis une bande sombre, au niveau de la couche des capsules rondes, ensuite une seconde bande claire plus large que la première et dans la région occupée par la couche à capsules primitives allongées disposées en séries et perpendiculaires à la surface. Cette bande est moins lumineuse que la première. Elle est plus large et s'étend jusqu'à la couche calcifiée. La limite entre la première bande obscure et les deux bandes claires qui l'avoisinent n'est pas nette; elle se fait par une série de teintes dégradées.

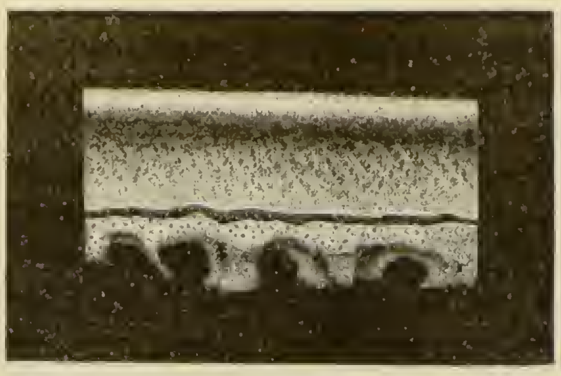


Fig. 104. — Cartilage de la tête d'un métacarpien de l'homme adulte. Coupe perpendiculaire à la surface, faite sur le cartilage frais, et examinée dans l'eau à la lumière polarisée, les deux nicols étant croisés. — 18 diam.

Faut-il conclure de cette observation qu'il y a dans le cartilage plusieurs substances disposées par couches successives? Si l'on admettait la théorie de Brücke, il faudrait en reconnaître au moins deux, disposées alternativement : l'une monoréfringente, l'autre biréfringente.

Cette manière de voir est insoutenable, car on sait parfaitement que la substance cartilagineuse a la même constitution dans toute l'épaisseur du cartilage. Il n'y a de différent dans ses diverses couches que la forme des cellules. C'est la même cause qui la fait varier et qui donne à la substance fondamentale ses propriétés de monoréfringence et de biréfringence.

Dans la couche superficielle où les cellules sont aplaties parallèlement à la surface, la substance cartilagineuse est aussi comprimée dans ce sens, et c'est cette compression qui la rend biréfringente. Dans la couche profonde, où les cellules sont allongées perpendiculairement à la surface, la substance fondamentale, par la même cause, est comprimée dans cette direction, et cette compression la rend de même biréfringente. Entre ces deux couches comprimées, l'une parallèlement, l'autre perpendiculairement à la surface du cartilage, se trouve une couche intermédiaire où ces deux pressions se

font équilibre. C'est la couche où les cellules sont rondes, et elles ont précisément cette forme parce qu'elles sont comprimées également dans tous les sens. La substance intercellulaire n'étant pas comprimée dans une direction donnée est restée monoréfringente et forme par conséquent une bande obscure.

Il est un fait pathologique qui est en rapport avec cette interprétation. Lorsque, sous l'influence d'une irritation (rhumatisme articulaire aigu ou chronique), les cellules des couches superficielles du cartilage se sont gonflées et ont proliféré, et que la substance fondamentale de ces couches a subi un certain degré de ramollissement, elles ne sont plus biréfringentes ; elles restent obscures, quelle que soit leur orientation. Il a donc suffi d'un processus pathologique changeant la constitution physique de cette couche pour lui faire perdre sa double réfraction. Celle-ci n'est donc pas liée à un état chimique de la substance, mais seulement à un état physique.

Pour terminer ce qui est relatif aux cartilages diarthrodiaux étudiés à la lumière polarisée, je dois dire que la description qui précède ne s'applique pas aux régions marginales d'un revêtement articulaire cartilagineux. Au voisinage du périoste et des capsules articulaires, les rapports intimes de continuité entre le tissu cartilagineux et le tissu fibreux changent les conditions optiques, de telle sorte que l'image régulière dont nous avons parlé ne se produit plus. Enfin, les cartilages des côtes, du larynx, de la trachée et des bronches, examinés sur des coupes perpendiculaires à la surface et placés dans une orientation convenable, montrent le périchondre fortement biréfringent ; les couches superficielles munies de capsules lenticulaires se comportent comme la couche superficielle des cartilages diarthrodiaux, tandis que les couches profondes, formées de capsules rondes, sont monoréfringentes ou possèdent une biréfringence faible, excepté dans les points où il s'est produit une segmentation fibrillaire de la substance fondamentale. Ces derniers, lorsque la coupe est parallèle à la direction des fibres, se montrent biréfringents.

Accroissement des cartilages. — A l'aide des méthodes qui permettent de voir les cellules de cartilage dans leur intégrité, il est possible de suivre toutes les phases de la multiplication des cellules et de la formation de la substance fondamentale.

Chez les jeunes embryons de mammifères, dans les couches du cartilage qui vont bientôt être envahies par l'ossification, on trouve de grandes cellules claires, riches en matières glycogènes et ne contenant pas de granulations graisseuses. Parmi ces cellules, il y en a qui contiennent deux noyaux (fig. 105). D'autres fois dans une même capsule, il existe deux cellules côte à côte ou séparées par une mince cloison de substance fondamentale. En comparant les unes aux autres ces différentes formes, on arrive à la notion du mode suivant lequel les cellules cartilagineuses se multiplient : division du noyau, segmentation de la masse protoplasmique pour former un corps cellulaire distinct à chaque noyau, puis, autour de chacune des cellules, formation d'une capsule distincte d'abord et qui ensuite tend à se confondre avec la capsule primitive.

Chez les grenouilles, où le développement du cartilage se fait avec lenteur, mais se poursuit constamment, on trouve dans le cartilage de la tête du fémur un certain nombre de cellules contenant deux noyaux et des cellules qui, comprises dans une capsule primitive, sont disposées l'une à côté de l'autre ou sont séparées par une lame cartilagineuse excessivement mince.

Aussi bien chez la grenouille que chez les mammifères, la multiplication des cellules cartilagineuses se produit par division, et chacune des nouvelles cellules s'enveloppe d'une capsule secondaire distincte de la capsule primitive.

Les auteurs classiques d'histologie désignent la reproduction des cellules cartilagineuses et la formation de leurs capsules sous le nom de *génération endogène*. Cette expression est vicieuse, car elle fait supposer que les cellules de nouvelle formation naissent dans l'intérieur de cellules semblables, tandis qu'elles tirent leur origine de la division de cellules anciennes.

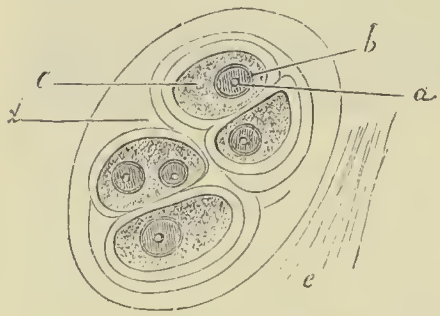


Fig. 105. — Cellules cartilagineuses du calcanéum d'un embryon de chien, prises au voisinage de la ligne d'ossification et examinées dans une solution saturée d'acide picrique. — *d*, capsules primitives et secondaires; *c*, protoplasma cellulaire; *b*, noyau; *a*, nucléole; *e*, substance fondamentale segmentée.

Les mots de capsules mère et de capsule fille sont également mauvais, puisque la capsule primitive ne concourt nullement à la formation des capsules secondaires. Ces dernières proviennent, comme nous venons de le voir, d'un travail physiologique, accompli par chacune des cellules de nouvelle formation.

Au texte que l'on vient de lire et qui est celui de la première édition de cet ouvrage, je n'ai rien à changer pour ce qui est relatif aux rapports des cellules et des capsules dans les phénomènes de division cellulaire présidant à l'accroissement du cartilage; mais j'ai à ajouter, parce que la multiplication des cellules du cartilage, comme celle des cellules épithéliales, se fait par le mécanisme de la division indirecte.

On peut en suivre toutes les phases dans les os en voie de développement, chez les embryons de salamandres maculées (voy. p. 225). Des coupes longitudinales de ces os comprenant les surfaces articulaires sont faites après l'action de l'acide picrique et on les colore par l'hématoxyline nouvelle et l'éosine, comme les épithéliums préparés pour l'étude de la karyokinèse (voy. p. 226).

GÉNÉRALITÉS SUR LE TISSU CARTILAGINEUX

Le tissu cartilagineux est caractérisé essentiellement par une substance intercellulaire ou par des capsules péricellulaires. Ces capsules, de la même nature que la substance intercellulaire, sont formées d'une matière élastique, transparente, se colorant faiblement par l'iode, qui se coupe facilement, et

qui donne naissance par l'ébullition à un produit que l'on nomme la *chondrine*. Quant aux cellules, elles ne possèdent aucun caractère spécial; elles ne peuvent être définies que par la propriété qu'elles ont de faire autour d'elles de la substance cartilagineuse. Elles remplissent exactement leur cavité capsulaire; elles possèdent toutes un ou deux noyaux. Elles élaborent dans leur protoplasma soit de la matière glycogène, soit de la graisse. Quand elles ont un développement très actif, comme dans les couches d'ossification que nous étudierons plus tard et dans les chondromes, elles contiennent de la matière glycogène. Lorsque, au contraire, leur développement est arrêté et qu'elles sont devenues fixes, on y observe de la graisse. Ce fait a une certaine importance au point de vue des hypothèses que l'on peut faire sur la formation des matières grasses dans les organismes vivants, et il conduit à penser que, dans les cellules de cartilage, la matière glycogène donne naissance à la graisse.

La nutrition du cartilage ne peut se faire qu'aux dépens de matières provenant de la lymphe ou du sang et qui arrivent jusqu'aux cellules cartilagineuses pour y être élaborées. Or, ces cellules étant enfermées dans une substance fondamentale compacte, il importe de savoir comment les matériaux nutritifs peuvent leur parvenir. Ils y arrivent nécessairement à travers la substance intercellulaire. Celle-ci est perméable, ainsi que le prouve la rapidité avec laquelle nous voyons s'y faire la diffusion de l'eau et des différentes matières colorantes que l'on fait agir sur le cartilage pour en colorer les cellules. La pénétration des substances colloïdes par les cristalloïdes, bien connue aujourd'hui, nous rend parfaitement compte de ces phénomènes de diffusion; et pour expliquer l'apport des matériaux de nutrition dans les capsules de cartilage, il n'est nullement nécessaire d'admettre des voies canaliculées que du reste nous n'avons jamais pu observer à l'aide du microscope dans les cartilages des vertébrés.

Nous aurions à présenter ici des considérations générales sur les rapports du tissu cartilagineux avec le tissu fibreux et le tissu osseux. Mais, pour en saisir toute l'importance, il est nécessaire d'avoir étudié auparavant le tissu conjonctif, le tissu osseux et les phénomènes essentiels du développement des os. Ces considérations seront donc mieux placées après l'étude que nous allons faire de ces différents tissus.

CHAPITRE V

TISSU OSSEUX

Le tissu osseux forme le squelette des reptiles, des poissons osseux, des oiseaux et des mammifères. Nous n'étudierons pas ses variétés chez les différents animaux. Ce que nous allons dire s'applique à l'homme et aux

mammifères seulement, et si nous prenons quelques exemples ailleurs ce sera uniquement pour faire remarquer certaines formes spéciales.

On distingue en anatomie descriptive le tissu osseux compact du tissu spongieux, et l'on admet même des formes intermédiaires. Dans ces différentes formes, la structure est la même, ce n'est que l'arrangement ou texture qui diffère.

ÉTUDE PRATIQUE DU TISSU OSSEUX ADULTE

Pour étudier le tissu osseux, il convient de faire d'abord des préparations qui en montrent l'ensemble. Mais, comme ces préparations ne conduisent pas à une analyse suffisante des différents éléments, nous indiquerons ensuite des méthodes spéciales qui permettent de faire une observation plus délicate de chacun d'eux en particulier.

Les préparations d'ensemble sont des coupes faites à la scie sur des os desséchés. Il est nécessaire que l'os sur lequel on pratique les coupes ne soit pas infiltré de matières grasses. La plupart des os que l'on trouve soit chez les naturalistes, soit dans les amphithéâtres d'anatomie, ne peuvent pas fournir de bonnes préparations. Généralement, ils présentent dans plusieurs points de leur masse, soit autour du canal médullaire, soit autour des plus gros canaux vasculaires, des taches graisseuses que l'on reconnaît à leur transparence. Il se peut qu'un os ait macéré très longtemps et que ces taches graisseuses se montrent encore. Cela tient, non pas à ce que la macération n'a pas eu une durée assez longue, mais à ce que les os ont été desséchés avant d'être plongés dans l'eau. En effet, lorsqu'un os frais est abandonné à l'air, la graisse des canaux médullaires s'infiltre de proche en proche à mesure que l'eau s'évapore.

Si l'on destine un os à des préparations microscopiques, il faut le plonger dans l'eau dès qu'il est séparé des parties molles, et, lorsqu'il est encore mouillé, le diviser en segments d'une certaine longueur à l'aide de la scie. Puis on chasse avec un courant d'eau la moelle contenue dans le canal central, ou, s'il s'agit d'un os spongieux, on le soumet à l'hydrotomie. Dans ce but, une épiphyse avec une petite portion de la diaphyse étant séparée du reste de la pièce osseuse, un tube de caoutchouc d'une dimension convenable est ajusté sur le bout sectionné de la diaphyse et fixé avec un lien. L'autre extrémité de ce tube est adaptée à un robinet par lequel l'eau s'écoule sous pression. Pour faciliter le passage de l'eau à travers tout le tissu spongieux, on retranche avec un couteau le cartilage et la lamelle osseuse sous-chondrale.

Les parties osseuses compactes ou spongieuses, débarrassées de leur substance médullaire, doivent être abandonnées à la macération pendant plusieurs mois, en ayant soin de renouveler de temps en temps le liquide. Lorsque toutes les parties molles ont été détruites, et que la graisse s'est décomposée en donnant des produits solides, les pièces osseuses sont abandonnées à la dessiccation. Elles deviennent blanches comme de l'ivoire et présentent sur des surfaces de coupe une matité uniforme.

Pour faire des préparations du tissu compact, on y fait des coupes à l'aide de la scie. Ces coupes sont usées et polies, comme il a été dit (p. 70). Le tissu spongieux est fragile, et les lamelles qui le composent seraient brisées par la scie, si elles n'étaient pas soutenues. Pour en faire des coupes, il faut employer le procédé suivant : le fragment d'os est plongé dans une solution sirupeuse de gomme ; lorsqu'elle l'a pénétré il est mis à sécher à l'air ; la gomme s'épaissit et devient poisseuse. Alors on le porte dans l'alcool qui durcit la gomme. De ce fragment désormais solide, il est facile d'enlever avec la scie des coupes minces. Ces coupes sont usées et polies comme les autres, avec cette seule différence que, pour mouiller la pierre, au lieu d'employer de l'eau il faut se servir d'alcool ; autrement l'eau dissoudrait la gomme, et la pièce n'aurait plus assez de solidité pour résister aux actions mécaniques. Lorsque la coupe est suffisamment mince, elle est placée dans l'eau où la gomme se dissout, et elle est mise à sécher ensuite sur une feuille de papier à filtrer.

Il est facile de faire des os complètement frais des préparations presque aussi bonnes que celles que l'on obtient des os bien macérés. Pour réussir, il est nécessaire que l'os soit plongé dans l'eau dès qu'il a été séparé des parties molles, et qu'il soit bien et complètement mouillé dans toutes ses parties lorsqu'à l'aide de la scie on y pratique des coupes. Ces coupes sont déposées à mesure dans un petit baquet plein d'eau ; on les lave à plusieurs reprises avec un pinceau, et l'eau est renouvelée jusqu'à ce que toutes les parties graisseuses soient chassées. Ces coupes sont alors usées sur une pierre ponce mouillée. Lorsqu'elles sont suffisamment minces, elles sont de nouveau lavées avec le plus grand soin, puis abandonnées à la dessiccation.

Quel que soit le mode opératoire qui ait été suivi pour faire les coupes, on a recours pour terminer la préparation à des procédés variés, dont les plus usités sont l'inclusion dans l'air ou dans le baume du Canada.

Les coupes d'os qui doivent être examinées simplement dans l'air sont bien desséchées, placées sur une lame de verre et recouvertes d'une lamelle. Celle-ci est fixée avec des bandes de papier gommé. Ces préparations sont bonnes à la condition que les surfaces aient été très bien polies ; autrement elles présentent des stries qui troublent singulièrement l'image.

Les coupes minces d'os sont montées avec beaucoup d'avantage dans le baume du Canada. Suivant la manière d'opérer, on obtient des préparations variées, opaques ou transparentes, qui permettent de distinguer mieux telles ou telles parties du tissu osseux.

Pour faire une préparation opaque, une goutte de baume est déposée sur la lame de verre et chauffée avec ménagement au-dessus d'une lampe à alcool ou d'un bec de gaz, de manière à faire évaporer l'essence de térébenthine qui y est contenue et à rendre ainsi la résine moins liquide. Après refroidissement, la consistance de la goutte est essayée en appuyant la pointe d'une aiguille sur sa surface. Si cette surface résiste, la lame est portée de nouveau au-dessus de la flamme pour faire fondre le baume, et, tandis qu'il est liquide, la coupe osseuse tenue au moyen d'une pince y est plongée.

Puis la lamelle est appliquée sur le fragment osseux en appuyant dessus avec le manche d'une aiguille ou d'un scalpel, et le tout est porté sur une surface métallique froide pour que la résine se solidifie rapidement. Ces précautions sont indispensables. Il faut, en effet, tout à la fois, que le baume soit liquide pour éclaircir en l'imbibant la substance fondamentale de l'os, et qu'il se solidifie rapidement pour ne pas pénétrer dans les fins canalicules dont nous parlerons plus loin, parce qu'il les déroberait à l'observateur. La dessiccation brusque du baume du Canada, en le chauffant sur une flamme, est d'une application délicate, car en la pratiquant on s'expose à enflammer la résine ou à la jaunir. Aussi est-il préférable de le dessécher lentement. Pour cela, on en place une goutte sur une lame de verre, et on abandonne à l'évaporation à l'air et à l'abri de la pousssière.

Il est un autre procédé employé depuis longtemps par les marchands de préparations et dont je ne connais pas l'auteur. La coupe d'os amincie et polie est montée dans le baume liquide; mais, auparavant, elle est enduite de colle forte de Lyon que l'on y met avec un pinceau. Toutes les ouvertures des canaux étant bouchées par la colle, l'air ne peut plus s'en échapper.

Les préparations transparentes dans le baume du Canada se font de deux façons. Si l'on veut obtenir la plus grande transparence possible pour voir nettement des parties que l'on a d'abord colorées, la coupe d'os bien sèche est plongée dans de l'essence de térébenthine ou dans du chloroforme. Elle est ensuite déposée dans une goutte de baume liquide sur la lame de verre et recouverte de la lamelle.

Lorsqu'on se propose, au contraire, l'étude des lamelles osseuses, la préparation doit être faite autrement. La coupe d'os est plongée dans du baume du Canada sec fondu par la chaleur et maintenu en fusion jusqu'à ce qu'il ait infiltré complètement les canalicules osseux. Pour cette opération, on peut aussi se servir de résine dammare solide, telle qu'on la trouve chez les marchands et dont on choisit un fragment bien pur et bien transparent.

Une bonne coupe transversale opaque, d'un os long de l'homme adulte prise à peu près au milieu de la diaphyse, nous montre à un faible grossissement le tissu osseux disposé sous la forme d'un anneau dont les couches externes sont formées par un système de lamelles continu (*système de lamelles périphériques*). Le bord central de cet anneau limite le canal médullaire. Il est formé aussi par des lamelles (*système périmédullaire*); mais celles-ci ne constituent pas un système circulaire continu comme à la surface. Dans presque tous les os, elles son imbriquées. Entre le système de lamelles périphériques et le système périmédullaire se trouve compris un tissu dont la description est subordonnée à celle des canaux vasculaires ou canaux de Havers. Ces canaux se montrent sous la forme de cercles clairs comme le canal médullaire central. Autour de chacun d'eux, il existe un système de lamelles à couches concentriques semblable à celui qui entoure l'os tout entier. Ce sont là les *systèmes de Havers*.

Deux systèmes de Havers voisins se touchent, ou bien ils sont séparés par des espaces de formes très variées (triangulaires ou quadrangulaires) où le tissu osseux présente une disposition spéciale. Les arcs que décrivent les lamelles de ces espaces appartiennent à des circonférences dont les rayons sont toujours très grands par rapport à ceux des systèmes de Havers. Ce sont là les *systèmes de lamelles intermédiaires*.

En résumé, dans une coupe transversale de la diaphyse d'un os long, les systèmes de lamelles se distinguent en périphériques, périmédullaires, de Havers et intermédiaires. Nous reviendrons plus loin sur les canaux de Havers et sur ces différents systèmes de lamelles, qui présentent chacun des particularités dans leur structure.

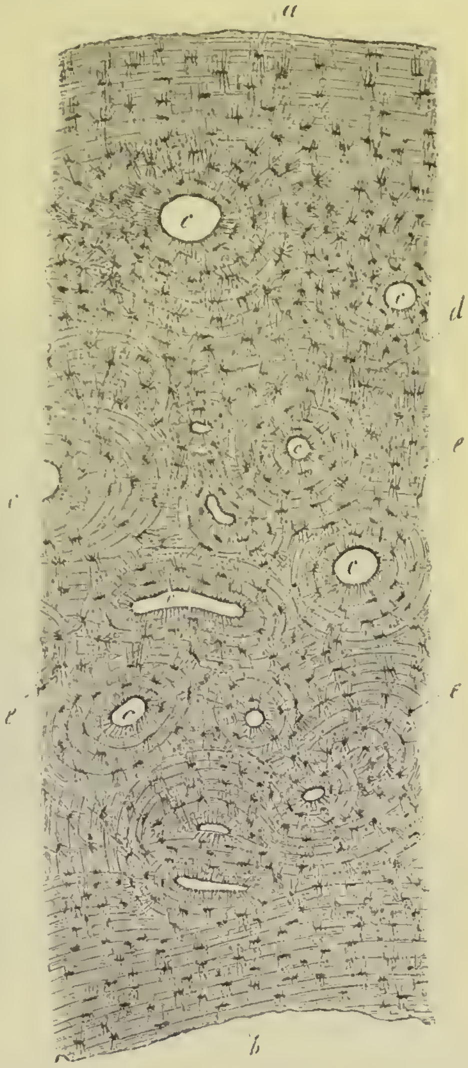


Fig. 106. — Coupe transversale du corps d'un métacarpien de l'homme. — *a*, système de lamelles périphériques; *b*, système périmédullaire; *c*, canaux de Havers entourés de leurs systèmes; *d*, systèmes intermédiaires (grossissement faible).

Quel que soit le système de lamelles que l'on considère, on le voit, à un grossissement de 100 à 500 diamètres, parsemé assez régulièrement de petits corps noirs étoilés (*corpuscules osseux*). De ces corpuscules partent des canalicules extrêmement fins qui se divisent et s'anastomosent entre eux. Ce sont les *canalicules primitifs*.

Telles sont les différentes parties constituantes d'un os. Mais si nous bornions là notre observation, elle serait insuffisante, et il convient de poursuivre cette étude, soit en examinant plus attentivement les préparations dont nous venons de parler, soit en en faisant d'après d'autres procédés ayant pour but de nous faire mieux connaître telle ou telle de ces parties.

Canaux de Havers. — Dans une coupe transversale, nous avons vu les canaux de Havers représentés par des cercles à peu près réguliers. L'observation de cette préparation ne nous suffit pas pour nous faire connaître exactement la forme de ces canaux. En effet, le microscope ne nous donne ici de cet objet que sa projection sur un plan. Or, comme l'enseigne la géométrie descriptive, il faut, pour définir un objet, sa projection sur deux plans non parallèles. Dans le cas particulier qui nous occupe, un canal n'est pas défini par une projection sur un plan perpendiculaire à son axe, il faut encore sa projection sur un plan parallèle à cet axe. Nous remplaçons la projection sur un second plan par l'observation d'une coupe perpendiculaire à la première,

faite par conséquent suivant l'axe de l'os, et montrant les canaux de Havers dans leur longueur.

Pour ajouter à la netteté de ces préparations, on les traite de la manière suivante. Une fois usées et polies par le procédé ordinaire, elles sont plongées pendant 10 à 20 heures dans une solution ammoniacale de carmin concentré. Leurs deux faces sont ensuite usées sur une pierre à aiguiser mouillée avec de l'alcool. Les couches de la surface qui ont été colorées sont ainsi enlevées, et il ne reste de rouge dans la préparation que ce qui est en creux.

Dans les coupes longitudinales traitées de cette façon, les canaux de Havers apparaissent comme des tubes anastomosés, colorés en rouge. Ils sont pour la plupart dirigés dans le sens de l'axe de l'os et réunis entre eux par des canaux obliques, de manière que les mailles interceptées ont une figure losangique ou trapézoïde.

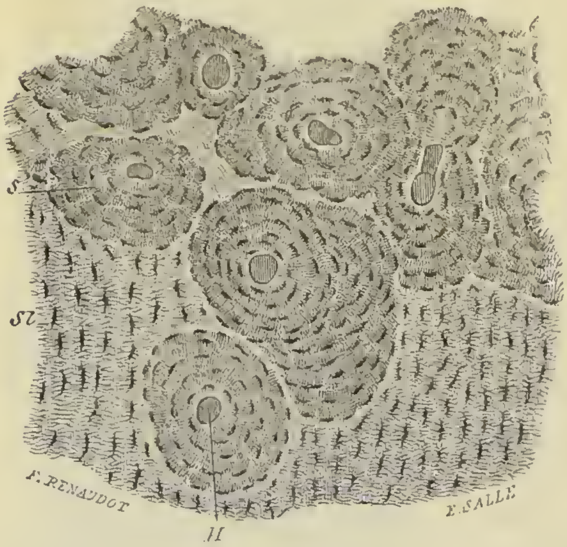


Fig. 107. — Coupe transversale de la diaphyse du fémur de l'homme adulte. Coloration des canaux de Havers par le carmin. Préparation dans le baume sec. — *H*, canal de Havers; *s*, système de Havers; *si*, système intermédiaire. — 40 diam.

Dans les coupes transversales, ils se montrent comme des cercles rouges, lorsqu'ils sont remplis de détritus osseux colorés par le carmin. D'autres fois, ils sont vides, limités par des liserés rouges qui les bordent.

Il est inutile de donner une description spéciale du tissu spongieux. On peut considérer ses aréoles comme des canaux de Havers considérablement élargis, de telle sorte qu'il ne reste plus entre eux qu'une faible couche de tissu osseux; celui-ci y est toujours disposé sous forme de lamelles concentriques.

Corpuscules osseux et canalicules primitifs. — Dans des préparations sèches conservées dans l'air, aussi bien que dans celles qui sont montées dans le baume du Canada desséché, les corpuscules et les canalicules paraissent noirs, parce qu'ils sont remplis de gaz. Comme ces gaz ont un indice de réfraction très faible relativement à la substance osseuse dans laquelle ils sont enfermés, ils agissent sur la lumière transmise comme une bulle d'air dans le baume (voy. p. 12). Il est tout à fait inutile de discuter à ce sujet l'opinion des anciens histologistes qui considéraient ces corpuscules et ces canalicules comme des amas de sels calcaires, dont l'opacité aurait empêché la lumière d'arriver à l'œil de l'observateur, ce qui les aurait fait paraître noirs.

Pour bien apprécier la forme des corpuscules osseux, il faut les observer dans des coupes transversales et longitudinales. D'après les images fournies par les deux espèces de coupes, on arrive à se convaincre que la plupart des

corpuscules, surtout ceux qui sont situés dans les systèmes périphériques, périmédullaires et de Havers, ont la forme d'une amande ou d'un ovoïde aplati suivant le plan formé par les lamelles qui les contiennent. Quant aux raprorts des corpuscules avec les lamelles, il en sera question un peu plus loin.

Les canalicules primitifs paraissent anastomosés entre eux, comme nous avons dit plus haut. Dans un système de Havers, les plus internes semblent bien s'ouvrir dans le canal vasculaire, mais ce détail, que l'on peut reconnaître avec peine et seulement pour quelques-uns d'entre eux, échappe dans la plupart des préparations. Les anastomoses des canalicules primitifs sont difficiles à suivre, qu'il s'agisse des canalicules d'un même système ou de ceux de deux systèmes voisins.

Cependant, chez certains poissons, il n'en est pas ainsi. Les corpuscules de la lame osseuse de l'opercule des ouïes du cyprin doré et des divers poissons osseux sont remarquables par la longueur et par la régularité de leurs canalicules. La préparation en est facile. Après avoir enlevé l'opercule, ses deux faces, raclées d'abord avec un scalpel, sont usées sur une pierre ; puis la pièce, après avoir été lavée dans l'eau et desséchée, est montée dans du baume de Canada sec (fig. 108).



Fig. 108. — Lame osseuse de l'opercule des ouïes du cyprin doré. Préparation dans le baume sec. — *c*, corpuscule osseux ; *a*, canalicules primitifs ; *s*, substance fondamentale. — 300 diam.

Dans la plupart des cas, il est nécessaire pour bien voir la disposition des canalicules, de recourir à un autre mode de préparation dont les résultats sont bien supérieurs, et qui permet même d'acquérir de nouvelles notions sur les rapports des canalicules compris dans un même système de Havers ou dans deux systèmes voisins.

Par ce mode de préparation, on se propose de faire pénétrer dans l'intérieur des canalicules une matière très vivement colorée, qui en marque nettement le trajet. De toutes les matières colorantes, celle qui convient le mieux est le bleu d'aniline insoluble dans l'eau en solution alcoolique.

L'os dans lequel on fait les coupes doit être parfaitement macéré et desséché. Ces coupes transversales et longitudinales sont obtenues par le procédé ordinaire, bien usées et polies. Mais si on les plonge sans leur faire subir aucune autre opération dans la solution de bleu, la matière colorante n'y pénètre qu'imparfaitement. Cela tient à ce que la poussière et les détritus résultant du polissage obturent les orifices des canalicules qui viennent s'ouvrir sur les deux faces de la préparation et en occupent le calibre sur une certaine longueur. La matière colorante dans laquelle les coupes sont plongées ne peut donc pas entrer directement dans les canalicules et, n'y

pénétrant que par les canaux de Havers, ne les injecte que très incomplètement. Pour obvier à cet inconvénient, il suffit, après que la coupe a été amincie et polie par les procédés ordinaires, d'en racler les deux faces avec un scalpel bien tranchant, de les décaper pour ainsi dire, en enlevant la couche superficielle où les canalicules sont bouchés. Le bleu, pénétrant dès lors par toutes les ouvertures, irriguera à peu près complètement le système des canalicules. La coupe étant ainsi préparée, elle est portée dans la solution alcoolique de bleu et y est abandonnée pendant une ou deux heures; puis on chauffe au bain-marie jusqu'à dessiccation complète. La lame d'os est alors usée des deux côtés sur une pierre à rasoirs mouillée avec une solution de chlorure de sodium à 2 pour 100. Elle est lavée dans cette solution et montée en préparation permanente dans un mélange à parties égales de glycérine et de la solution de sel. Le sel est employé ici parce qu'il diminue la solubilité des couleurs d'aniline ou les rend complètement insolubles.

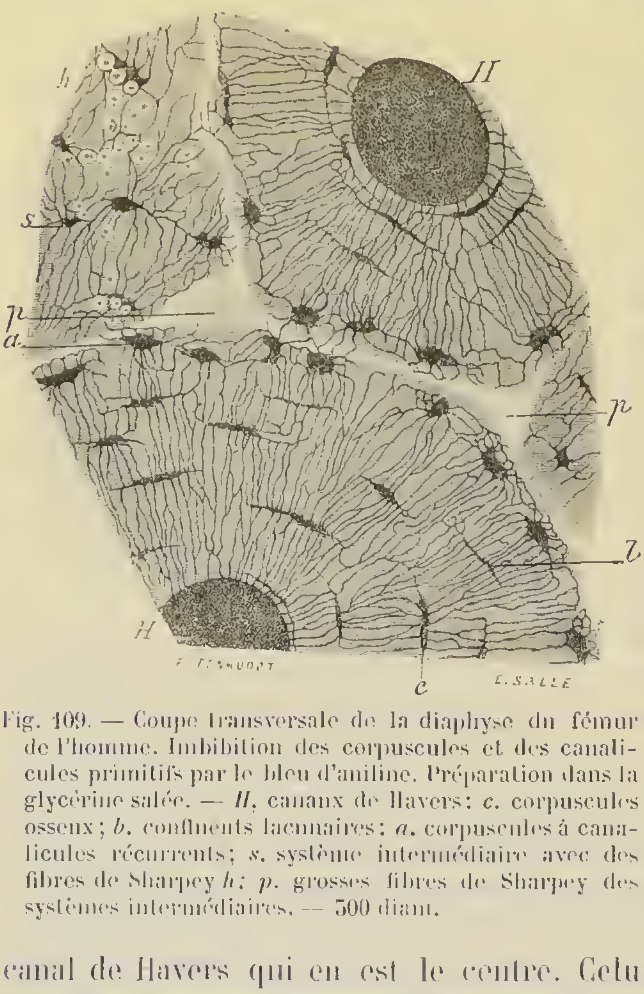


Fig. 109. — Coupe transversale de la diaphyse du fémur de l'homme. Imbibition des corpuscules et des canalicules primitifs par le bleu d'aniline. Préparation dans la glycérine salée. — *H*, canaux de Havers; *c*, corpuscules osseux; *b*, confluents lacunaires; *a*, corpuscules à canalicules récurrents; *s*, système intermédiaire avec des fibres de Sharpey *h*; *p*, grosses fibres de Sharpey des systèmes intermédiaires. — 300 diam.

Dans une coupe transversale d'os traitée de cette façon[1], les corpuscules osseux et les canalicules primitifs remplis de la matière à injection sont très nettement dessinés. Les canalicules sont faciles à suivre dans leur trajet et dans tous leurs détours. Il est aisé de se convaincre que les plus internes d'un système concentrique vont tous aboutir au canal de Havers qui en est le centre. Celui-ci est dessiné dans la préparation par un cercle ou par un anneau bleu qui représente ses parois colorées par le bleu d'aniline. La communication des canalicules avec le canal est du reste un fait admis par tous les histologistes, et sur lequel je n'insisterai pas.

La même préparation conduit à l'observation d'autres faits qui présentent de l'importance au point de vue de la structure et du développement du tissu osseux. Parmi les corpuscules compris dans les systèmes de Havers, il s'en rencontre qui ne sont constitués que par une simple fente dont la largeur ne dépasse pas de beaucoup celle d'un canalicule primitif. On reconnaît qu'il s'agit bien là d'un corpuscule, à cause de la place qu'il occupe

1. *Archives de physiologie*, 1875, p. 16.

par rapport aux autres, et parce que des canalicules primitifs venus des corpuscules voisins l'atteignent perpendiculairement à son axe et se comportent avec lui comme les canalicules avec les autres corpuscules. J'appelle ces corpuscules minces, *confluents lacunaires* des os. Je pense qu'il s'agit là de corpuscules osseux en voie d'atrophie ou complètement atrophiés. Cette observation est en rapport avec celle de quelques auteurs sur l'écartement des corpuscules osseux dans les progrès de l'âge. Seulement, je ne pense pas que ce phénomène soit le résultat d'une production de substance osseuse nouvelle qui écarterait les anciens corpuscules, comme le soutiennent ces auteurs, mais bien de la disparition d'un certain nombre de ces corpuscules par atrophie. L'existence des confluents lacunaires rend du moins mon interprétation très probable.

Un second fait que nous montre l'injection des canalicules par le bleu d'aniline est le suivant : les corpuscules qui sont à la limite périphérique d'un système de Havers présentent deux espèces de canalicules. Les internes se comportent comme les canalicules des autres corpuscules osseux, c'est-à-dire qu'ils sont rectilignes ou légèrement sinueux, se divisent et s'anastomosent avec les canalicules des corpuscules voisins. Les externes ont une toute autre marche. Ils se dirigent d'abord en droite ligne vers la limite du système de Havers, comme s'ils allaient s'anastomoser avec des canalicules venus d'un système de Havers voisin ou d'un système intermédiaire ; mais, arrivés à la limite du système de Havers auquel ils appartiennent, ils décrivent une courbe, reviennent sur eux-mêmes et vont s'anastomoser avec des canalicules appartenant à leur propre système. J'appelle ces canalicules, *canalicules récurrents*. Quelques-uns d'entre eux font exception à la règle et vont s'anastomoser avec des canalicules d'un système voisin.

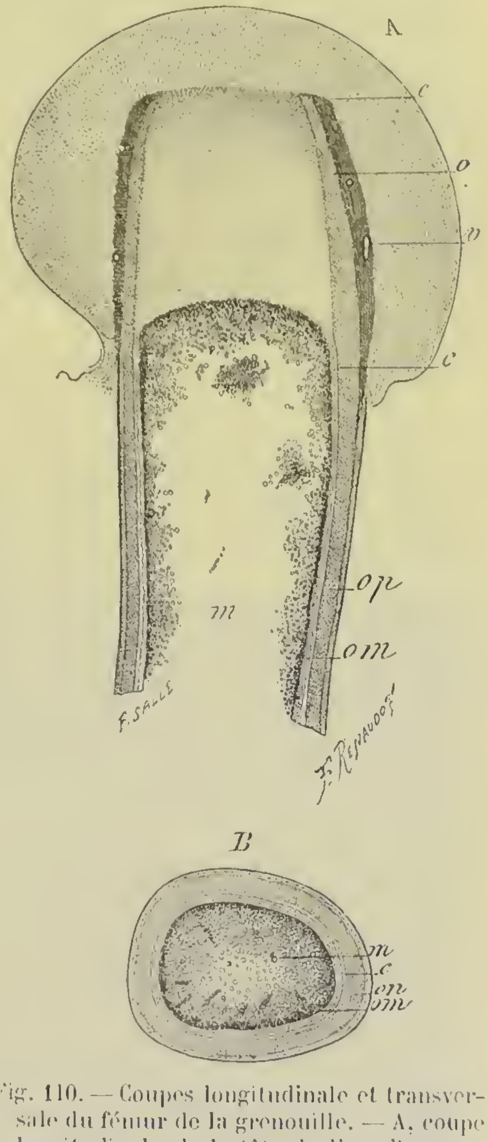


Fig. 110. — Coupes longitudinale et transversale du fémur de la grenouille. — A, coupe longitudinale de la tête de l'os ; B, coupe transversale de sa diaphyse. — 10 diam.

Il résulte de ces faits que les corpuscules et les canalicules d'un système de Havers forment un ensemble indépendant jusqu'à un certain point. Cela est en rapport avec cette conception de l'anatomie générale, qu'un système de Havers, avec son canal vasculaire central, son système lamellaire et ses

corpuscules, représente l'os élémentaire. Chez certains animaux, la grenouille en particulier, un os long est formé d'un seul système de Havers (fig. 110).

Dans les systèmes intermédiaires, aussi bien dans ceux qui sont au voisinage du canal médullaire, que dans ceux qui sont placés à la périphérie de l'os, les corpuscules et les canalicules présentent une disposition que l'on ne peut comprendre si l'on ne connaît pas les fibres de Sharpey.

Sharpey a signalé le premier, dans les couches superficielles des os, des fibres pâles qu'il appelle fibres perforantes et que l'on nomme généralement de son nom, *fibres de Sharpey*. Ces fibres pénètrent dans l'os, suivant une direction perpendiculaire ou oblique à sa surface. Nous les avons rencontrées aussi dans l'intérieur de l'os, non pas dans les systèmes de lamelles concentriques, mais dans les systèmes intermédiaires. Elles se présentent dans ces systèmes suivant les directions les plus variées, mais dans les coupes transversales de la diaphyse des os longs la plupart sont coupées transversalement [1].

Dans les îlots qui, dans une coupe transversale de ces os, correspondent aux systèmes intermédiaires (*h* fig. 109), elles se montrent sous forme de cercles réfringents d'un diamètre très variable. Il se trouve de ces cercles dans tous les îlots intermédiaires, aussi bien dans ceux qui avoisinent le canal médullaire central que dans ceux qui sont à la périphérie de l'os. Jamais on n'en observe dans les systèmes de Havers. Cette première observation établit que tous les îlots



Fig. 111. — Coupe transversale du frontal du chien adulte, faite sur l'os sec, puis décalcifiée par l'acide chlorhydrique. — *S*. fibres de Sharpey; *c*, corpuscules osseux; *v*, canal vasculaire entouré d'un système de lamelles où les fibres ne pénètrent pas. — 400 diam.

1. Il est facile d'isoler les fibres de Sharpey. Pour cela, une coupe mince d'un os frais ou macéré, usée et polie soigneusement, est plongée dans 200 grammes d'eau contenant 1 à 2 grammes d'acide chlorhydrique (les os plats du crâne conviennent spécialement pour ce genre de préparation). La décalcification se produit assez rapidement dans la lamelle d'os, examinée alors dans l'eau acidulée à un grossissement de 300 à 500 diamètres, les fibres de Sharpey se distinguent nettement. En dissociant avec les aiguilles, on arrive à écarter les lamelles les unes des autres comme les feuillets d'un livre, et si de temps à autre on regarde la préparation à un faible grossissement pour se rendre compte des résultats de la dissociation, on voit les fibres rester adhérentes aux lamelles périphériques, se dégager des profondes et finalement être complètement isolées. Dans les lamelles privées de leurs fibres de Sharpey, se remarque en creux le moule des fibres qui ont été enlevées. Dans les préparations qui n'ont pas été soumises à la dissociation, les fibres de Sharpey se montrent sous la forme d'un système élégant (fig. 111). Elles se séparent, se réunissent de nouveau, et finalement viennent se terminer brusquement sur la lamelle la plus externe d'un système de Havers. (Sharpey, *Quain's anatomy*, 1867, vol. I, p. 96, fig. 46.)

intermédiaires ont été formés sous le périoste, ainsi qu'on le comprendra en étudiant le développement du tissu osseux (voy. plus loin, chap. VII).

Ces préparations conduisent à une bonne appréciation des rapports des corpuscules et des canalicules avec les fibres de Sharpey. Les corpuscules sont placés dans les angles laissés entre ces fibres; les canalicules nés de ces corpuscules contournent les fibres de Sharpey et s'anastomosent autour d'elles, sans jamais les traverser. Cette dernière observation, rapprochée de celle des canalicules récurrents de la périphérie des systèmes de Havers, établit que les canalicules osseux ne sont pas creusés après coup dans la substance osseuse; mais qu'ils se forment en même temps que cette dernière.

Cellules osseuses. — L'étude que nous venons de faire ne nous a fait connaître du tissu osseux que les parties qui résistent à la macération. Pour déterminer quel est le contenu des corpuscules osseux pendant la vie, il faut recourir à d'autres méthodes. Le procédé à employer consiste à décalcifier les os frais par les acides et à y faire des coupes avec le rasoir.

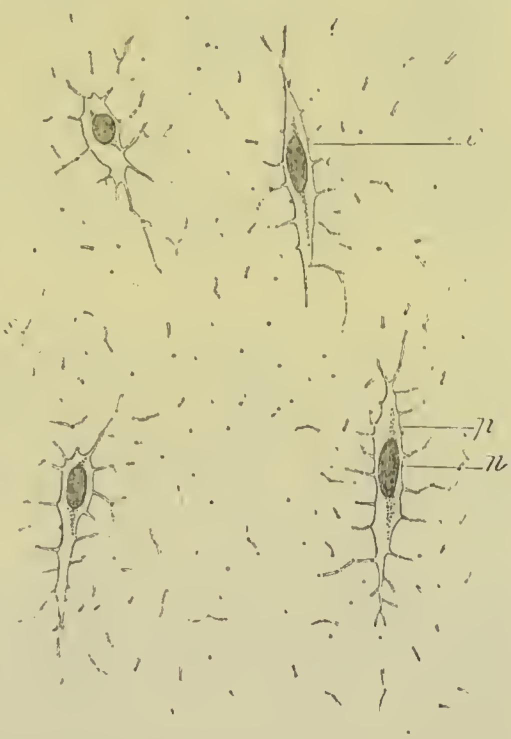


Fig. 112. — Coupe transversale du tissu spongieux de la tête du fémur du chat adulte, faite après décalcification dans une solution d'acide picrique et colorée avec de la purpurine. — *c*, corpuscules osseux; *n*, noyaux des corpuscules; *p*, coupe optique de la lamelle de protoplasma qui constitue la cellule osseuse; *s*, substance fondamentale de l'os dans laquelle on aperçoit des canalicules primitifs coupés dans diverses directions. — 1500 d.

Divers acides conviennent pour cette décalcification. Un mélange à parties égales d'eau et d'acide chlorhydrique agit rapidement. L'acide chromique à 2 pour 1000 ou à 5 pour 1000 a une action beaucoup plus lente, mais peut décalcifier complètement le tissu osseux à la condition que les fragments d'os n'aient guère plus de 4 millimètres de côté. L'acide chromique a l'inconvénient de produire souvent des granulations ou des cristaux dans la préparation; aussi est-il généralement préférable d'employer l'acide picrique concentré, qui n'a pas cet inconvénient. Quel que soit celui des deux acides que l'on emploie, il est indispensable que les fragments d'os soient très petits et la quantité du liquide relativement considérable ou renouvelé plusieurs fois.

On reconnaît que la décalcification est complète lorsque les fragments osseux sont légèrement flexibles, et qu'ils ne résistent pas au scalpel. On les monte dans de la moelle de sureau. On y fait des coupes, qui doivent être aussi minces que possible. Elles sont placées dans l'eau, puis elles sont colorées soit dans une solution de carmin neutre ou de picrocarminate, soit

dans une solution d'acétate de rosaniline dans l'acide acétique, ou mieux encore par l'hématoxyline ou la purpurine. Elles sont ensuite lavées à l'eau distillée et portées sur une lame de verre, où, après que l'on a constaté si la coloration est suffisante, elles sont montées en préparation.

On peut arriver à faire des coupes après décalcification sur des fragments d'os assez volumineux, en procédant de la manière suivante. Une rondelle d'os (de fémur humain par exemple), ayant 1 à 2 centimètres d'épaisseur, est plongée dans un flacon contenant 500 grammes d'une solution d'acide chromique à 5 pour 1000. L'acide attaque d'abord les couches superficielles, et, au bout de quelques jours, il est facile de détacher avec le rasoir, aux deux extrémités de la rondelle, deux lames minces. Puis l'os est remis dans la solution d'acide chromique, et au bout de quelques jours on peut enlever sur chacune de ses faces une nouvelle lame osseuse.

On arrive, en continuant de cette façon à pratiquer des coupes successives et à débiter en tranches minces une assez grande épaisseur de l'os.

Dans les os décalcifiés, les canalicules osseux sont mal dessinés, la différence de réfraction entre le liquide qu'ils contiennent et la substance osseuse n'étant pas assez considérable pour faire apparaître nettement des objets si fins, à moins d'employer de très forts objectifs.

Des coupes minces d'os décalcifié dans l'acide picrique, soumises pour les colorer à l'action de la purpurine, et examinées ensuite dans l'eau, nous montrent dans l'intérieur des corpuscules osseux, certains détails de structure. Au milieu des figures anguleuses qui correspondent aux corpuscules osseux se voient des noyaux ovalaires ou arrondis, colorés en rouge par le réactif. Ces noyaux ne sont pas libres dans la cavité des corpuscules. Lorsque ces derniers se présentent à l'œil de l'observateur suivant leur grand diamètre, on voit partir de chacune de leurs extrémités un prolongement granuleux qui s'en va en ligne droite ou en suivant un trajet un peu onduleux gagner la paroi de la cavité du corpuscule. Une observation attentive, faite à l'aide d'un très fort grossissement, conduit à reconnaître que ces prolongements correspondent à la coupe optique d'une lame protoplasmique. Cette lame s'est probablement détachée de la surface interne du corpuscule, car, sur un certain nombre de ceux-ci on la trouve encore fixée à la paroi de la cavité, tandis que le noyau qu'elle contient fait saillie dans son intérieur. Jamais on ne voit partir de la lame de protoplasma des filaments qui pénétreraient dans les canalicules primitifs.

D'après cette observation, il est vraisemblable que la cellule osseuse proprement dite est une cellule plate, moulée sur la paroi du corpuscule osseux et possédant un noyau globuleux. Il est peu probable que cette masse protoplasmique envoie des prolongements dans les canalicules primitifs, de telle sorte que la circulation plasmatique doit s'y faire facilement.

Virchow a décrit le corpuscule osseux comme une véritable cellule. Le procédé qu'il a employé pour le démontrer consistait à décalcifier de minces lamelles d'os au moyen de l'acide chlorhydrique étendu et à les dissocier

ensuite avec des aiguilles. Il obtenait de cette façon des corps étoilés, présentant à leur centre une masse plus réfringente[1].

Depuis lors, Neumann[2], en traitant d'abord par l'acide chlorhydrique, puis par une solution de soude faible, des os macérés et qui par conséquent ne pouvaient plus contenir d'éléments cellulaires, est arrivé à isoler des corps étoilés absolument semblables à ceux que Virchow avait obtenus des os frais, sauf qu'ils ne présentaient pas de noyau.



Fig. 115. — Deux corpuscules osseux isolés après macération. — *a*, complètement séparé, avec une masse centrale; *b*, dégagé d'un côté seulement — (Fig. empruntée au *Traité d'histologie* de Frey.)

Puisqu'elle persiste sur l'os macéré, la cellule osseuse de Virchow n'est donc pas une cellule. C'est une formation secondaire, une sorte de cuticule calcifiée qui entoure la cellule de la même façon que la capsule entoure la cellule cartilagineuse. La véritable cellule est dépourvue de membrane, et elle est constituée, comme les cellules que nous avons étudiées jusqu'ici, par une masse de protoplasma contenant un noyau. Cette masse est globuleuse dans les corpuscules osseux en voie de formation. Plus tard elle s'aplatit et devient une lame qui tapisse la cavité osseuse. Mais dans aucun cas on ne saurait considérer comme une membrane de cellule cette cuticule osseuse qui l'entoure et que l'on peut isoler. Pas plus que la capsule de cartilage, elle ne fait partie intégrante de la cellule.

Lamelles osseuses. — Les lamelles forment la substance osseuse proprement dite. Cette substance est un composé d'osséine et de sels calcaires. Ces sels n'existent pas dans les os sous forme de granulations distinctes; mais on les met en évidence en traitant une parcelle d'os sous le microscope par de l'acide chlorhydrique ou de l'acide sulfurique. Le premier de ces acides dégage des bulles d'acide carbonique en laissant un stroma organique qui conserve la forme de l'os. L'acide sulfurique détermine aussi le départ de bulles de gaz, mais en même temps il détermine la formation de cristaux de sulfate de chaux qui restent dans la préparation, et que l'on reconnaît à leur forme caractéristique.

Nous avons vu que, dans la diaphyse d'un os long, les lamelles osseuses constituent des systèmes distincts : systèmes périphériques, systèmes des canaux de Havers, systèmes intermédiaires. Lorsqu'on examine attentivement

1. La première observation de Virchow (*Verhandlungen der physico-medicalisch. Gesellsch. zu Würzburg*. 1850, p. 193), a été faite en traitant par l'acide chlorhydrique (la dose n'est pas spécifiée) des lamelles osseuses extraites d'une pièce de fracture consolidée, conservée dans l'alcool. L'année suivante (*loc. citat.*, 1851, p. 150), il reprend cette question, et dans un travail qui, à cette époque, a frappé vivement tous les histologistes, il cherche à démontrer que le corpuscule osseux, la cellule cartilagineuse, le corpuscule du tissu conjonctif et la cellule ramifiée du tissu muqueux sont des équivalents. Il rappelle qu'avant lui Schwann, Donders et Kölliker ont admis la nature cellulaire du corpuscule osseux, et que Donders était arrivé, en traitant des os par l'acide chlorhydrique d'abord et par la potasse ensuite, à isoler des corps étoilés qu'il considérait comme des cellules munies de prolongements.

2. *Neumann*, Beiträge zur Kentniss des normalen Zahnbein-und Knochengewebes. Kœnigsberg, 1863.

ces derniers systèmes, il est facile de reconnaître, en considérant leur situation et leur direction, qu'à une période du développement de l'os ils ont été des systèmes périphériques.

Une coupe transversale de la diaphyse d'un os long montée dans du baume du Canada sec, maintenu quelque temps en fusion par la chaleur pendant que la préparation y est plongée, montre très nettement ces différents systèmes; on peut employer aussi la résine dammare. Le baume ou la résine a pénétré dans les corpuscules et les canalicules et les a rendus presque invisibles; leurs détails ne gênent plus l'observation des lamelles.

Une préparation ainsi faite, examinée à un grossissement de 400 à 500 diamètres, avec un objectif à grand angle d'ouverture, montre, soit dans le système périphérique, soit dans les systèmes concentriques aux canaux de Havers, deux espèces de lamelles qui alternent l'une avec l'autre pour former des couches successives; les unes homogènes, brillantes quand l'objectif

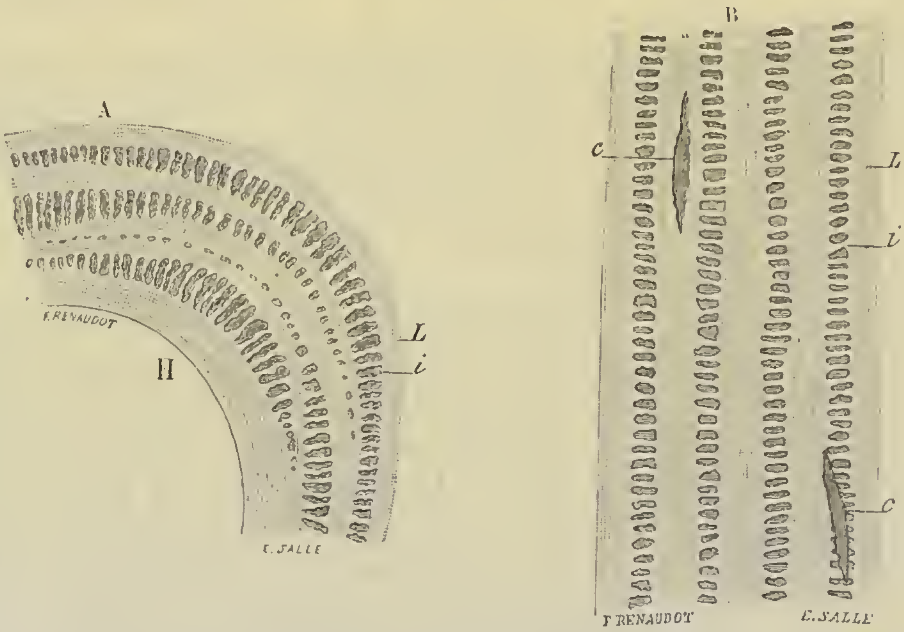


Fig. 114. — Coupes de la diaphyse du fémur de l'homme, faites sur l'os sec et maintenues dans le baume sec fondu par la chaleur jusqu'à infiltration des canalicules. — A, coupe transversale; B, coupe longitudinale; H, canal de Havers; L, lamelles homogènes; *i*, lamelles striées; *c*, corpuscules osseux. — 600 diam.

est au delà du point, obscures quand on le rapproche; les autres, d'aspect strié, obscures quand l'objectif est au point ou au delà, brillantes quand il est plus rapproché. Ces deux espèces de lamelles ont donc une réfringence différente. Nous appellerons les premières *lamelles homogènes*, les secondes, *lamelles striées*.

Il est facile de se convaincre que l'aspect strié d'une des espèces de lamelles est dû à de petits ponts à bords sinueux, formés d'une matière semblable à celle des lamelles homogène et ayant les mêmes propriétés optiques. Ces ponts interrompent la lamelle striée en réunissant les deux lamelles homogènes voisines.

Cette structure des lamelles osseuses se voit aussi bien dans les coupes

longitudinales (fig. 114, B) que dans les coupes transversales (fig. 114, A). Cela prouve que la striation est réellement produite par de petits ponts, et non pas par des lames longitudinales, comme on pourrait le croire si l'aspect strié ne se montrait que sur des coupes transversales.

Ces ponts donnent aux systèmes de lamelles l'aspect d'une étoffe tissée. C'est cette observation qui a dû conduire Sharpey[1] à considérer la substance osseuse comme composée tout entière de fibres passant les unes pardessus les autres comme la chaîne et la trame d'une étoffe. Cet auteur affirme avoir obtenu après la décalcification au moyen de l'acide chlorhydrique des préparations tout à fait démonstratives, et Kölliker, qui a vu ces préparations à Londres, confirme le fait, mais sans mentionner en aucune façon qu'il ait renouvelé l'expérience. Nous avons essayé le procédé indiqué par l'auteur, mais nous n'avons pas réussi à voir la texture dont il parle.

Examen des lamelles osseuses et des fibres de Sharpey à la lumière polarisée. — Pour l'étude des os à la lumière polarisée, les préparations opaques ne conviennent pas. Le meilleur procédé consiste à placer les coupes dans du baume du Canada sec et à chauffer assez longtemps pour que le baume pénètre dans les corpuscules et les canalicules et les rende transparents.

Une coupe longitudinale du fémur de la grenouille préparée de cette façon et examinée au microscope à la lumière polarisée sur champ noir, c'est-à-dire lorsque les deux nicols sont croisés (voy. p. 54), est tantôt lumineuse, tantôt obscure. En faisant tourner la préparation sur la platine (et avec un peu d'exercice on arrive a exécuter facilement cette manœuvre sans lui faire quitter le champ du microscope), on voit qu'elle est brillante dans toutes les positions, excepté suivant deux diamètres perpendiculaires l'un à l'autre et perpendiculaires ou parallèles au plan de polarisation des deux nicols.



Fig. 115. — Coupe transversale de la diaphyse du fémur de l'homme, examinée à la lumière polarisée, les deux nicols étant croisés. — 80 diam.

Une coupe transversale de la diaphyse d'un os long de mammifère, examinée dans les mêmes conditions, montre sur champ obscur une croix brillante autour de chaque canal de Havers (fig. 115). Toutes ces croix sont orientées de la même façon. Quand on fait tourner la préparation sur la platine, elles ne changent pas d'orientation; elles ne proviennent donc pas d'une structure particulière des lamelles en certains points.

1. *Sharpey*, Quain's Anatomy, 1867, vol. I, p. 98, fig. 45

Parmi les systèmes intermédiaires, ceux dont les lamelles sont dirigées obliquement par rapport aux croix sont obscurs. En faisant tourner la préparation, les lamelles des systèmes intermédiaires deviennent brillantes ou obscures, suivant qu'elles s'orientent parallèlement ou obliquement au système des croix.

Dans les os décalcifiés, ces phénomènes se produisent d'une manière identique; ils appartiennent par conséquent à la substance organique des os, et les sels calcaires ne sont pas nécessaires pour les produire.

Les fibres de Sharpey, vues suivant leur longueur, se comportent comme des sytèmes de lamelles rectilignes, c'est-à-dire qu'elles sont brillantes dans toutes les positions, excepté suivant deux diamètres perpendiculaires entre eux.

Les corpuscules sont monoréfringents.

Un histologiste distingué, Von Ebner[1], s'est inspiré des observations consignées dans la première édition de cet ouvrage sur la substance osseuse. Il les a complétées et il en a tiré une conclusion que je suis très disposé à accepter. Les lames homogènes et les lames striées auraient la même structure. Elles contiendraient des fibres biréfringentes comme les fibres connectives. Ces fibres vues suivant leur longueur paraîtraient brillantes à la lumière polarisée excepté lorsqu'elles seraient comprises dans les plans de polarisation du nicol polariseur et du nicol analyseur. Dans les lamelles striées, ces fibres seraient coupées perpendiculairement à leur axe ; dans les lamelles homogènes on les verrait suivant leur longueur. C'est pour cela que les lamelles homogènes paraissent brillantes et les lamelles striées obscures à la lumière polarisée, comme dans la figure 115.

Von Ebner admet que ce sont vraiment des fibres connectives qui entrent dans la composition des os. Il suppose même qu'elles ne sont pas infiltrées de sels calcaires. Ces sels existeraient seulement dans la substance qui les sépare. Cette dernière conclusion est fort discutable.

PÉRIOSTE

Le périoste est une membrane fibreuse qui constitue autour de l'os une gaine analogue aux aponévroses qui enveloppent les muscles. Quoique distincte de l'os, cette membrane lui est cependant unie par des tractus fibreux, de sorte qu'on ne l'arrache qu'avec un certain effort. Cette union du périoste avec l'os par des tractus fibreux constitue une analogie de plus entre le périoste et une aponévrose musculaire. Celle-ci en effet donne naissance, par sa face profonde, à des fibres connectives qui vont former le tissu conjonctif intramusculaire.

L'adhérence du périoste est variable suivant les points de l'os que l'on examine. Vers les extrémités, elle est plus forte; au niveau de l'insertion des tendons et des ligaments, elle est tellement intime qu'il est impossible de les séparer par la simple traction, et leur séparation ne peut se faire qu'à

1. *V. von Ebner*, Ueber den feineren Bau des Knochengewebes. (*Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch.*, 1875.)

la suite de la rupture du tendon ou de l'arrachement de fragments osseux. Nous ne pourrons fournir des explications complètes sur tous ces points qu'après avoir exposé les faits relatifs au développement du tissu osseux. (Voy. plus loin, Développement du tissu osseux.)

Voici maintenant le procédé que l'on emploie pour étudier le périoste :

Un os long d'un petit animal, le tibia d'un lapin jeune adulte, par exemple, dont le système vasculaire a été injecté en totalité de bleu de Prusse à la gélatine, est plongé dans de l'alcool ordinaire pendant vingt-quatre heures pour fixer les éléments. Un fragment de cet os, muni de son périoste, est mis dans une solution concentrée d'acide picrique. Au bout de quelques jours, quand la décalcification est complète, on y pratique des coupes transversales et longitudinales comprenant l'os et le périoste. Ces coupes, colorées au picrocarminate, sont montées dans de la glycérine.

Dans les coupes longitudinales, le périoste paraît strié longitudinalement et présente une coloration d'autant plus foncée qu'il est examiné sur un point plus rapproché de l'os. Dans la couche la plus interne, se voient des vaisseaux légèrement sinueux qui la parcourent dans une certaine longueur et finissent par pénétrer dans un canal de Havers. A un fort grossissement, on y distingue des faisceaux conjonctifs colorés en rose, et des fibres élastiques plus réfringentes colorées en jaune; fibres et faisceaux ont une direction longitudinale.

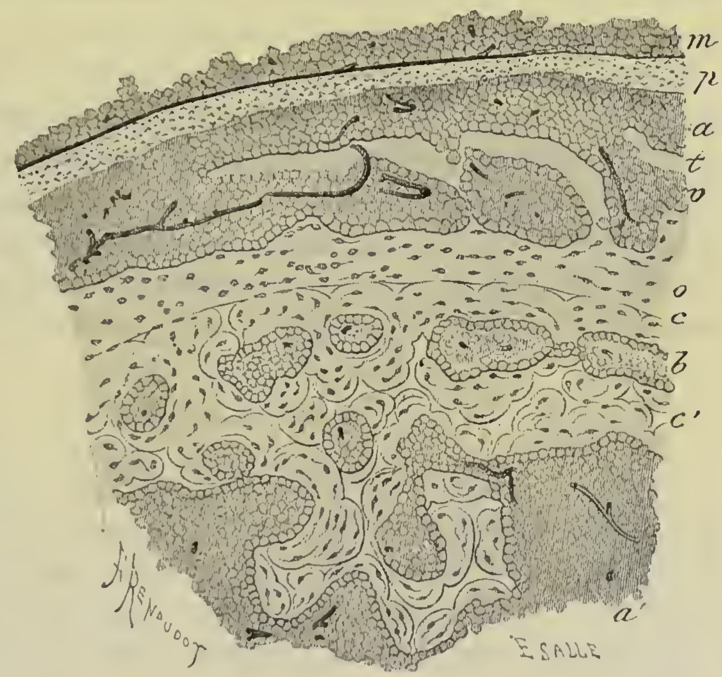


Fig. 116. — Coupe transversale du radius d'un embryon de chien, faite après décalcification par l'acide picrique en solution concentrée. — *p*, périoste; *a*, moelle sous-périostique. — 50 d.

Les coupes transversales donnent une autre image. Le périoste s'y montre nettement divisé en deux couches : une couche interne colorée en rouge et d'apparence granuleuse; une couche externe, plus claire, rosée, parcourue par un réseau de fibres élastiques qui la cloisonnent en mailles de grandeur variée, occupées par des faisceaux connectifs coupés en travers. Dans la couche interne, le réseau élastique est plus serré et formé de fibres plus fines, et les faisceaux connectifs sont plus minces. A la surface de ces faisceaux, sont appliquées des cellules connectives qui, sur la coupe, ont la forme d'un croissant. (Voy. Tissu conjonctif.)

A la surface de l'os, se voient des gouttières semi-circulaires dans lesquelles sont compris des capillaires sanguins injectés.

En certains points, là où le périoste a été un peu séparé de l'os, se montrent des fibres implantées obliquement et qui passent de l'os dans le périoste; ce sont des fibres spéciales que nous étudierons plus en détail, à propos du développement de l'os, sous le nom de *fibres arciformes*. Il nous suffit de faire remarquer maintenant que ce sont ces fibres qui déterminent l'adhérence de l'os et du périoste. Cette disposition se montre de très bonne heure. On peut l'observer sur les os en voie de développement. Seulement, dans ces derniers, la couche interne du périoste n'est pas telle que nous venons de la décrire. Tandis que sa couche externe est constituée par des faisceaux de tissu conjonctif à direction longitudinale, qui, par conséquent, sur des sections transversales sont coupés en travers, sa couche interne est représentée par un amas de cellules semblables à celles qui existent alors dans les espaces médullaires (voy. fig. 116).

En résumé, le périoste est constitué par des faisceaux conjonctifs et des fibres élastiques disposés longitudinalement, parcouru dans sa partie interne par des capillaires et relié à l'os par des fibres conjonctives qui passent obliquement de l'un dans l'autre.

Il est facile de s'assurer par l'examen des coupes, soit longitudinales, soit transversales, que le périoste se continue avec le tissu conjonctif des aponévroses musculaires. Au niveau de l'insertion des tendons et des ligaments, il est remplacé par le tissu de ces tendons ou de ces ligaments.

Un autre procédé pour l'étude du périoste consiste à circonscrire, avec un scalpel, sur un os, un petit fragment de périoste, en forme de rectangle, et à l'arracher de l'os en le saisissant par un des angles au moyen d'une pince. Ce fragment, étendu sur une lame de liège avec des épingles, est desséché. Lorsqu'il est sec on y pratique des coupes longitudinales ou transversales. Ce procédé, d'une application plus facile que le précédent, lui est de beaucoup inférieur. Il convient seulement pour l'étude du réseau élastique.

MOELLE DES OS

On trouve de la moelle dans les espaces médullaires et vasculaires de tous les os : canal central, aréoles du tissu spongieux, canaux de Havers. Elle se présente tantôt sous l'aspect d'une masse adipeuse jaunâtre, tantôt sous celui d'une pulpe plus ou moins rouge, semblable à la pulpe splénique; d'autres fois, enfin, elle est muqueuse, gélatiniforme et même fibreuse.

La moelle adipeuse se rencontre dans les os des membres de l'homme adulte, du bœuf, du chien, etc.; la moelle rouge, dans le corps des vertèbres des même animaux, dans les os des membres du cochon d'Inde, du lapin et du rat; par contre, les vertèbres caudales de ces animaux renferment de la moelle adipeuse. La moelle muqueuse ou fibreuse se rencontre dans les os du crâne et dans les os de la face pendant leur développement.

A l'examen histologique, et en employant les méthodes que nous allons indiquer, on trouve dans ces diverses espèces de moelle les mêmes variétés d'éléments; leur proportion sont variées.

Étudions comme exemple la moelle du fémur, du tibia ou de tout autre os long du cochon d'Inde : procurons-nous d'abord une certaine quantité de sérum du sang de cet animal, en lui faisant une large saignée par la carotide, et en laissant le sérum se séparer du caillot. L'os, isolé complètement des parties molles, est divisé suivant sa longueur au moyen de la lame d'un fort couteau que l'on y enfonce à coups de marteau. C'est ce procédé que l'on doit mettre en usage toutes les fois que l'on veut étudier la moelle des os à l'état physiologique ou pathologique. On ne saurait croire, si on ne l'a essayé, avec quelle facilité on divise ainsi les os les plus gros et les plus compacts. La scie ne doit pas être employée, parce que les débris qu'elle entraîne viennent se mélanger à la moelle, en modifient l'aspect et y forment des éléments étrangers que l'on retrouverait à l'examen microscopique.

Lorsque la moelle est mise à nu par cette opération, on en enlève des fragments avec la pointe d'un scalpel ; ceux-ci sont agités dans une goutte de sérum du sang sur une lame de verre, et il suffit de recouvrir d'une lamelle que l'on borde avec de la paraffine pour obtenir une préparation dans laquelle se montrent les divers éléments de la moelle des os.

Cette méthode, qui est excellente pour observer les différentes cellules de la moelle osseuse à l'état vivant, ne permet pas de voir dans toutes ces cellules les détails de leur structure, par exemple la forme et le nombre des noyaux. Elle ne peut fournir des préparations persistantes.

Voici la méthode qui nous a le mieux réussi pour atteindre ce but : un fragment de moelle est placé dans quelques centimètres cubes d'alcool au tiers. Au bout de dix à trente heures, on enlève une portion du fragment avec un scalpel, et on l'agite sur la lame de verre avec le liquide conservateur. Une goutte de picrocarminate à 1 pour 100 est ajoutée et mélangée. On obtient ainsi une préparation dans laquelle tous les éléments de la moelle sont conservés, sauf les globules rouges du sang, qui sont dissous par le mélange d'alcool et d'eau. Le protoplasma des cellules est coloré en jaune, et leurs noyaux en rouge plus ou moins intense. Pour rendre la préparation définitive, il suffit de déposer au bord de la lamelle une goutte de glycérine qui doit se mélanger lentement pour ne pas ratatiner les cellules.

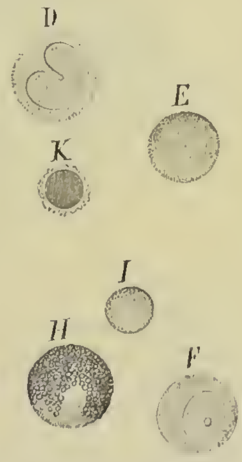


Fig. 117. — Cellules lymphatiques de la moelle du tibia du cochon d'Inde. — E, H, I, examinées dans du sérum du sang : D, K, F, examinées après l'action de l'alcool au tiers. 650 d.

Dans ces préparations, on observe des cellules adipeuses, des cellules semblables aux cellules lymphatiques, des cellules plus volumineuses, sphériques, présentant un ou plusieurs noyaux de forme bizarre (cellules à noyaux bourgeonnants) et de grandes cellules à noyaux multiples.

Les cellules adipeuses s'isolent avec une grande facilité, même dans le sérum du sang. Quelques-unes sont complètement libres, elles roulent sous l'influence des courants qui s'établissent dans la préparation et se montrent sous toutes leurs faces. Leur membrane d'enveloppe est très distincte ; elle

est séparée de la masse graisseuse par une couche de protoplasma (voy. Tissu adipeux) dans laquelle se voit un noyau lenticulaire. Si l'animal est jeune, à côté du noyau et quelquefois dans toute l'étendue du protoplasma sont disposées des granulations graisseuses.

Les cellules semblables aux cellules lymphatiques sont désignées généralement sous le nom de cellules médullaires, cellules de la moelle des os (médullocelles). Nous les appellerons cellules lymphatiques de la moelle des os. Leurs dimensions sont aussi variables que celles des cellules de la lymphe. Quelques-unes renferment des granulations colorées en brun. Lorsqu'elles sont examinées vivantes, dans du sérum du sang, on n'y distingue pas de noyau, nouvelle analogie avec les cellules de la lymphe.

Lorsqu'elles sont soumises, dans une chambre humide, à une température de 30 à 40°, la plupart d'entre elles présentent, comme les cellules lymphatiques, des mouvements amiboïdes. Si elles proviennent de la moelle de grenouille, elles manifestent des mouvements semblables à la température ordinaire. Il est très facile d'extraire la moelle osseuse du fémur ou du tibia de la grenouille. Le plus souvent, lorsque l'on casse l'os à son milieu, la moelle qui est souple n'est pas fracturée, et si l'on écarte lentement les deux fragments osseux, on voit d'un côté la moelle sortir du canal de l'os comme d'un fourreau.

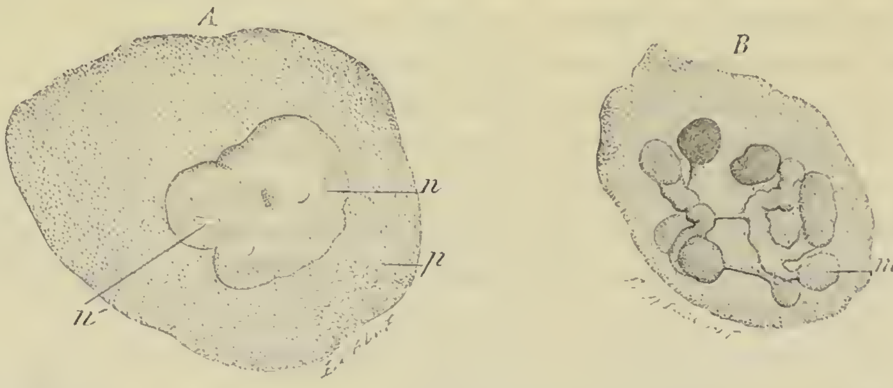


Fig. 118. — Deux cellules à noyaux bourgeonnants de la moelle du tibia du cochon d'Inde, examinées après l'action de l'alcool au tiers et du picrocarminate. — A, cellule contenant un gros noyau *n*, muni de bourgeons, avec des nucléoles *n'*; *p*, protoplasma granuleux. — B, cellule contenant un noyau bourgeonnant de forme bizarre, *m*. — 650 diam.

Après addition d'eau ou d'acide acétique dilué, ou mieux encore en suivant le mode de préparation par l'alcool indiqué plus haut, les cellules lymphatiques de la moelle des os montrent dans leur intérieur un seul noyau sphérique, ou en bissac. Quelques-unes de ces cellules possèdent deux, trois ou un plus grand nombre de noyaux. Les unes ont un corps homogène clair, d'autres présentent des granulations brunes ou incolores, plus ou moins abondantes.

Les cellules à noyaux bourgeonnants ont été bien décrites par Bizzozero[1]. Elles diffèrent des précédentes par une série de caractères; elles sont plus grandes; les noyaux apparaissent lorsqu'elles sont examinées dans le sérum

1. *Bizzozero*, Sul midollo delle ossa Napoli, 1869, p 11.

du sang; elles ne présentent pas de mouvements amiboïdes. Après l'action de l'acool faible et du picrocarminate, leur corps est granuleux. Parfois les granulations y sont disposées en couches concentriques, mais cette disposition n'est pas générale. A leur centre, se voit un seul noyau présentant des bosselures, ou une série de noyaux indépendants ou reliés entre eux par des filaments formés d'une substance semblable à celle qui constitue leur masse. Rien n'est plus variable que le nombre, la forme et la dimension de ces singuliers noyaux.

Les cellules à noyaux multiples que Jean Müller[1] avait déjà observées dans certains sarcomes des os, que Robin[2] a trouvées dans la moelle normale et qu'il a désignés sous le nom de *myéloplaxes*, peuvent être considérées



Fig. 119. — Une cellule mère ou gigantesque (myéloplaxe) de la moelle des os, extraite d'un sarcome myéloïde du maxillaire supérieur de l'homme. Alcool au tiers, puis picrocarminate. — *p*, masse protoplasmique irrégulière à sa périphérie; *n*, noyaux; *n'*, nucléoles. — 700 diam.

comme de grandes cellules plus ou moins épaisses, possédant des noyaux dans différents plans. Ces noyaux sont généralement ovalaires et ont des nucléoles volumineux. La masse protoplasmique qui constitue les cellules est granuleuse et présente de grandes analogies avec celle des cellules précédentes. Y a-t-il d'autres rapports entre ces deux espèces de cellules, des rapports de développement par exemple? Nous ne possédons encore à ce sujet aucune observation concluante.

Parmi les petites cellules médullaires comparables aux cellules de la lymphe, Neumann[3] et Bizzozero[4] en ont trouvé quelques-unes dont le corps

1. *J. Müller*, Ueber den feineren Bau der krankhaften Geschwuelste, 1838, p. 6.
2. *Robin*, Comptes rendus de la Société de biologie, 1849, p. 119.
3. *Neumann*, Ueber die Bedeutung des Knochenmarkes für die Blutbildung, *Centralblatt*, 1868, p. 689.
4. *Bizzozero*, Sul midollo delle ossa, 1869, p. 13.

est coloré en rouge et qui présentent dans leur intérieur un noyau distinct. Ces histologistes, comparant les cellules colorées de la moelle des os aux globules rouges nucléés des embryons de mammifères, sont arrivés à cette conception que, dans la moelle des os, les cellules lymphatiques se transforment en globules rouges du sang, et que la moelle osseuse est par le fait un organe hématopoiétique. On a vu plus haut, à propos du développement des globules rouges du sang (voy. p. 180), que les cellules hémoglobiques proviennent de cellules spéciales qui diffèrent des cellules lymphatiques par des caractères importants : l'absence de mouvements amiboïdes, le volume et la forme de leurs noyaux. Les cellules lymphatiques de la moelle osseuse contiennent fréquemment des granulations colorées en jaune ou en brun, qui très probablement proviennent de l'hémoglobine. On est dès lors conduit à penser que dans la moelle des os, comme dans la pulpe splénique, quelques globules rouges sont détruits, et que leur hémoglobine infiltrant les cellules lymphatiques s'y transforme en granulations pigmentaires.

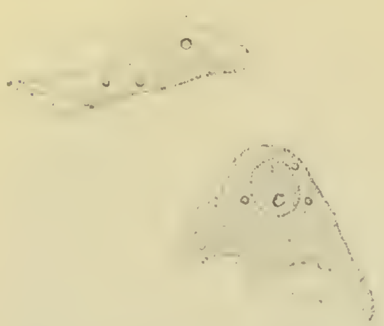


Fig. 120. — Deux cellules dites ostéoblastes de l'extrémité supérieure du fémur d'un chien nouveau-né, isolées après l'action de l'alcool au tiers et traitées ensuite par le picrocarminate d'ammoniaque. — 650 diam.

Dans le tissu ossseux en voie de développement, on rencontre, outre les variétés cellulaires décrites précédemment, des cellules particulières par leur forme, auxquelles Gegenbaur[1] a donné le nom d'ostéoblastes. Elles sont constituées par une masse de protoplasma prismatique, granuleuse, contenant un noyau ovalaire qui n'est pas situé au centre de la cellule, mais au voisinage de l'un de ses bords. A côté d'elles, on observe souvent des cellules à noyaux multiples et quelquefois des cellules à noyaux bourgeonnants. Il est fort probable que ces trois variétés de cellules appartiennent à la même espèce.

CHAPITRE VI

TISSU CONJONCTIF

Le tissu conjonctif correspond à peu près au tissu cellulaire de Bichat. Répandu dans le corps tout entier, il enveloppe tous les organes et pénètre dans leur intérieur pour leur former une sorte de squelette.

Ainsi le derme et le tissu cellulaire sous-cutané qui le double sont faits de tissu conjonctif; les aponévroses qui entourent les muscles, les capsules qui environnent le foie, les reins, etc., sont faites de tissu conjonctif. Dans les

1. *Gegenbaur*, Ueber die Bildung des Knochengewebes *Jenaische Zeitschr.*, t. I et t. IV.

glandes (abstraction faite des vaisseaux et des nerfs), tout ce qui n'est pas le parenchyme lui-même est du tissu conjonctif. Les membranes séreuses, les tendons, les ligaments, la trame plus ou moins serrée qui retient ensemble différents organes, sont du tissu conjonctif.

La notion que Bichat avait de ce tissu se trouve aujourd'hui confirmée par les recherches les plus modernes. Malgré l'imperfection des méthodes que notre grand anatomiste a appliquées à l'étude du tissu cellulaire, il en avait compris la disposition générale et la signification physiologique. « Placées autour des organes, les différentes parties du système cellulaire servent en même temps et de lien qui les unit et de corps intermédiaire qui les sépare. Plongées dans l'intérieur de ces mêmes organes, elles concourent essentiellement à leur structure[1]. » Sans avoir pénétré la structure de ce tissu, sans même avoir pu en constater la présence dans tous les organes, Bichat a donc prévu (car on ne peut dire connu) toute son importance et s'est élevé, dans les considérations générales dont nous venons de citer un extrait, à une hauteur de vues dont l'exactitude a été confirmée par les plus célèbres histologistes modernes (J. Müller et Virchow). Dans le passage que nous venons de transcrire, se trouve, en effet, déjà exprimée par Bichat, l'idée de tissu unissant, idée qui a porté J. Müller a créer le mot de *Bindegewebe*, tissu conjonctif. Ce mot, heureusement choisi, a passé facilement dans le langage, et, comme ceux qui l'employaient étudiaient les tissus au microscope, ils en ont précisé le sens, de sorte qu'aujourd'hui le mot de *tissu conjonctif* est seul usité parmi les histologistes.

Les histologistes classiques allemands rangent dans un seul groupe les tissus osseux, cartilagineux et conjonctif, sous le nom général de tissus de substance conjonctive. Cette systématisation remonte à Reichert[2]. Voyant dans les fibres et les faisceaux du tissu conjonctif de simples plissements d'une substance homogène, cet auteur assimila la substance fondamentale des cartillages et des os à celle du tissu conjonctif et lui donna le même nom de substance conjonctive (*Bindesubstanz*).

Il y eut peu d'histologistes pour suivre l'opinion de Reichert sur les fibres du tissu conjonctif; ces fibres, qui avaient été fort bien étudiées par Henle, sont trop nettes pour que l'on puisse les mettre en doute. Mais, tout en rejetant le fait qui lui servait de base, un grand nombre d'histologistes admirent l'expression de Reichert et l'idée générale qui en découlait. Cette systématisation, appuyée de l'autorité de Virchow[3], a encore été étendue, et l'on est arrivé à ranger dans les tissus de substance conjonctive des parties anhistes ou qui paraissent telles, comme le sarcolemme, la membrane de Schwann, la membrane de Descemet, etc.

L'idée émise par Reichert a eu une influence heureuse sur les progrès de l'histologie, parce qu'elle a provoqué un grand nombre de recherches; mais,

1. *Bichat*, Anatomie générale, 1812, t. I, p. 11.

2. *C. B. Reichert*, Bemerkungen zur vergleichenden Naturforschung und vergleichende Beobachtungen über das Bindegewebe und die verwandten Gebilde. Dorpat, 1845.

3. *Virchow*, Verhandlungen der phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg, 1851, p. 150.

d'autre part, elle a nui à la rigueur des observations, parce qu'elle satisfaisait trop aisément l'esprit. Le mot de substance conjonctive répondait à tout, et il dispensait trop souvent d'un examen approfondi. Beaucoup d'histologistes en sont restés là, et, aujourd'hui encore, malgré que l'on ait reconnu les erreurs sur lesquelles s'appuie cette théorie, on la conserve parce qu'elle est commode pour grouper dans un cadre commun un certain nombre de tissus qui ont entre eux beaucoup de rapports.

Nous n'avons pas à discuter maintenant le plus ou moins d'exactitude de ces vues sur la substance conjonctive. Avant de nous livrer à une discussion générale quelconque, nous commencerons par faire l'analyse des éléments du tissu conjonctif et de leur disposition dans ses différentes formes, comme nous l'avons fait pour les autres tissus. Nous pourrons alors avec plus de raison nous poser la question de savoir si, en effet, il y a une substance conjonctive, base commune des tissus conjonctif, cartilagineux et osseux.

ÉTUDE PRATIQUE DU TISSU CONJONCTIF

Nous avons défini ce qu'est le tissu conjonctif, et les exemples que nous avons cités indiquent assez qu'il est répandu dans tout le corps et qu'il existe dans tous les organes. Ce tissu, constitué partout par les mêmes éléments, n'a pas dans tous les points où il se rencontre la même disposition. Étendu en lames dans les membranes et les aponévroses, il est disposé en faisceaux parallèles dans les tendons, en couches très minces dans les interstices des parenchymes, etc.

Les procédés à employer pour en faire des préparations varieront nécessairement avec ces différences; nous serons donc forcé d'étudier séparément ses différentes formes. Nous exposerons successivement les méthodes pour examiner le tissu conjonctif diffus, les tendons, les membranes, le tissu conjonctif réticulé, le tissu lamelleux ou engainant, et enfin le tissu muqueux.

Depuis la publication de la première édition de cet ouvrage, j'ai employé, dans mes cours, les expressions plus exactes de tissu conjonctif diffus à la place de tissu conjonctif lâche et de tissu conjonctif modelé pour désigner les tendons, les aponévroses, les membranes et les gaines de tissu conjonctif.

Tissu conjonctif diffus. — Le tissu conjonctif diffus se rencontre dans différentes parties du corps et en particulier sous la peau, qu'il unit aux parties sous-jacentes, de manière à lui permettre une mobilité plus ou moins grande. Pour l'apercevoir, il suffit de faire une incision à la peau d'un animal, d'un chien par exemple, et d'en détacher un lambeau. Il se montre sous la forme d'un tissu blanchâtre, lâche, facile à saisir et à soulever avec une pince.

Le procédé employé anciennement pour faire une préparation de ce tissu consiste à en exciser avec des ciseaux un petit fragment. Porté sur une lame de verre, ce fragment est dissocié dans une goutte d'eau avec les aiguilles, et lorsqu'il est réduit en filaments ou en débris assez minces, il est recou-

vert d'une lamelle et porté sous le microscope. La préparation montre une grande quantité de fibres plus ou moins recourbées entrelacées dans tous les sens, et offre à peu près l'image d'un paquet de cheveux emmêlés. Lorsque le fragment de tissu contient de la graisse, la préparation présente, outre ces fibres, des gouttes de graisse très réfringentes.

Une petite quantité d'acide acétique, mise sur le bord de la lamelle et venant atteindre le tissu, fait gonfler d'abord les fibres dont nous avons parlé. Bientôt elles disparaissent, et il en apparaît d'autres beaucoup plus fines et plus réfringentes; ces nouvelles fibres sont très nettes et présentent un double contour (ce sont les fibres élastiques). Ce procédé simple et rapide, quoiqu'il soit très imparfait, permet donc de constater dans le tissu conjonctif l'existence de deux espèces de fibres et la présence de la graisse; mais il ne donne aucune autre indication.

La méthode qui fournit les notions les plus exactes sur la structure du tissu conjonctif est la dissociation au moyen des injections interstitielles. Cette méthode que nous avons imaginée et décrite en 1869[1], nous l'avons généralisée depuis en l'appliquant à un grand nombre de tissus, comme on le verra dans la suite. Voici comment on procède pour le tissu conjonctif.

Injections interstitielles dans le tissu conjonctif diffus. — Un morceau de peau est enlevé à un chien avec le bistouri. On y comprend le tissu cellulaire sous-cutané; il faut avoir soin de choisir une région où il y ait peu de graisse, le pli de l'aine, par exemple. Puis, ayant rempli d'eau ou d'un liquide coloré une seringue de Pravaz munie d'une canule piquante, on introduit la pointe de celle-ci dans le tissu conjonctif sous cutané et on injecte. Il se forme autour de l'extrémité de la canule une boule légèrement aplatie dont le volume varie suivant la quantité du liquide injecté. Une fois produite, on peut en augmenter les dimensions sans en modifier la forme, en faisant pénétrer une nouvelle quantité de liquide. Ce fait, à lui seul, démontre que le tissu conjonctif ne contient pas, comme le pensait Bichat, des espaces sphériques d'un volume déterminé. Cet auteur, en effet, s'appuyant sur les résultats qu'il avait obtenus en faisant dans ce tissu des insufflations à la manière des bouchers, le croyait formé de vacuoles arrondies qu'il comparait à des cellules, et c'est pour cela qu'il lui avait donné le nom de tissu cellulaire. L'injection interstitielle telle que nous l'avons pratiquée suffit pour renverser cette conception. En effet, si un de ces espaces avait été rempli par la première injection, une seconde injection n'aurait pas augmenté simplement le volume de la boule : ou bien elle n'aurait pas pénétré, ou bien elle aurait formé une série de boules en remplissant les espaces voisins du premier.

La manière dont se forme la boule d'œdème artificiel se comprend facilement si l'on veut admettre pour un instant ce que nous démontrerons plus loin, à savoir que le tissu conjonctif est constitué par d'innombrables fila-

1. *Des éléments cellulaires des tendons et du tissu conjonctif lâche.* Archives de physiologie, 1869, p. 471, et Frey, *Éd. française*, p. 275 et suivantes. Paris, 1871.

ments d'une grande souplesse. Le liquide injecté, arrivant avec une certaine pression au milieu de ces filaments, les refoule, les applique les uns contre les autres et en fait une sorte de membrane dans laquelle il est emprisonné. La pression répartie également dans tous les sens est la cause de la forme sphérique de la boule. Si une nouvelle quantité de liquide est injectée au même point, les fibres qui forment la membrane et qui sont mobiles glissent les unes sur les autres de manière à circonscrire un espace plus considérable, et c'est ce qui explique pourquoi la dimension de la boule peut varier suivant les quantités de liquide que l'on y injecte.

Une excision pratiquée avec de fins ciseaux courbes en un point de cette boule, de manière à en détacher une calotte, montre que, malgré cette ouverture, le liquide ne s'en écoule pas immédiatement. Il paraît y être devenu une sorte de gelée. Cela tient à ce que les fibres n'ont pas toutes été refoulées à la périphérie de la boule : il en est resté en son milieu un certain nombre qui la traversent en différents sens et la divisent en espaces si petits que le liquide y est maintenu par capillarité.

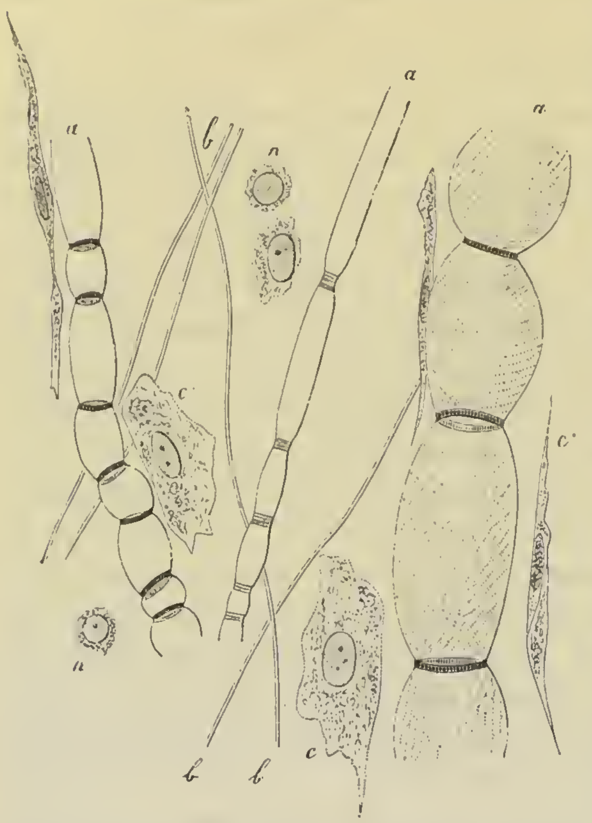


Fig. 121 — Tissu conjonctif sous-cutané du chien adulte, préparé par injection interstitielle d'une solution au nitrate d'argent à 1 pour 1000, coloré avec le picrocarminate et conservé dans la glycérine additionnée d'acide formique. — *a*, faisceaux conjonctifs munis de fibres annulaires ; *b*, fibres élastiques ; *c*, cellules plates vues de face ; *c'*, les mêmes, vues de profil ; *n*, cellules lymphatiques. — 400 diam.

On coupe rapidement d'un second coup de ciseaux une tranche de cette gelée. Celle-ci est portée de suite sur une lame de verre qu'il faut avoir soin de préparer d'avance, ainsi que la lamelle avec laquelle on la recouvre immédiatement. La rapidité est nécessaire dans cette opération ; si l'on tarde un peu à recouvrir de la lamelle, l'eau s'échappe des mailles qui la retiennent, le tissu revient sur lui-même, et, examiné au microscope, il n'est pas beaucoup plus distinct que si l'on avait suivi la méthode ancienne.

Une préparation de ce genre bien faite présente à l'examen microscopique des faisceaux du tissu conjonctif striés longitudinalement, parcourant la préparation dans divers sens. On y voit encore des fibres élastiques plus minces (*b*, fig. 121), de grandes cellules plates situées à côté des faisceaux de tissu conjonctif (*c* et *c'*, fig. 121), de grosses cellules adipeuses (excepté dans les endroits où il n'y a pas de graisse du tout), et enfin de petites cellules analogues aux globules blancs du sang (*n*, fig. 121). Nous allons exa-

miner en détail ces différents éléments, soit au moyen de la méthode que nous venons de décrire, soit à l'aide de procédés que nous exposerons en leur lieu.

Faisceaux connectifs. — Les faisceaux de tissu conjonctif préparés, soit par la méthode ancienne, soit suivant le procédé que nous venons d'indiquer, paraissent striés suivant leur longueur. La largeur de ces faisceaux est variable; ils peuvent avoir depuis 2 millièmes jusqu'à plusieurs centièmes de millimètre de diamètre.

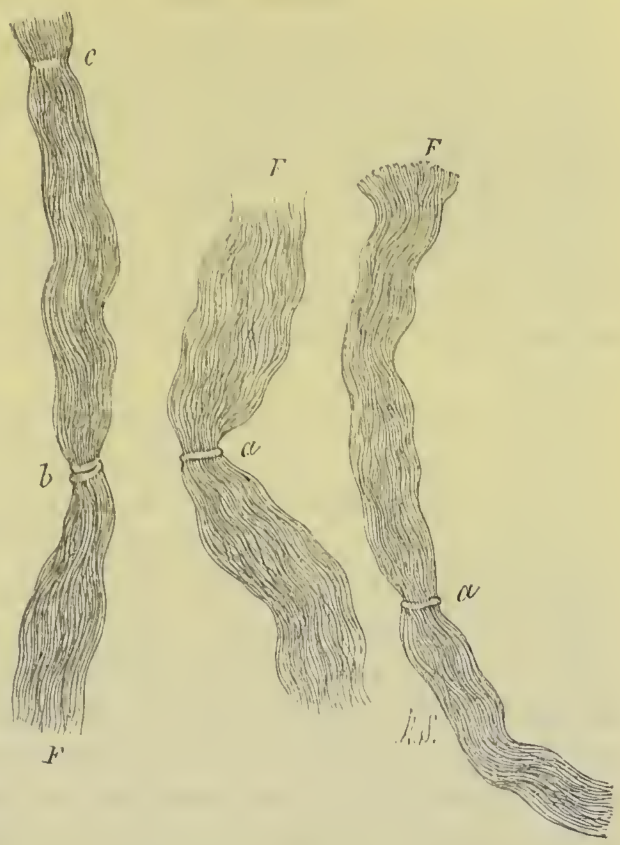


Fig. 122. — Trois faisceaux du tissu conjonctif rétro-péritonéal de l'homme, examinés dans la sérosité de l'œdème. — *F*, substance fibrillaire des faisceaux; *a*, fibres annulaires; *b*, fibre spirale; *c*, fibre annulaire peu marquée. — 400 diam.

Une goutte d'acide acétique ajoutée sur les bords de la lamelle et venant imbiber le tissu fait gonfler les faisceaux. Alors se remarquent à leur surface des étranglements déterminés par des fibres qui les étreignent tantôt transversalement, de manière à leur former comme un anneau, tantôt obliquement pour les contourner en spirale. Ces fibres annulaires et spirales ont été décrites par Henle comme des éléments réels. Plusieurs auteurs lui ont objecté que c'étaient des produits artificiels dus à l'action de l'acide acétique. Mais, dans des préparations faites seulement avec l'eau, ainsi que Henle lui-même l'a établi, les faisceaux ne sont pas gonflés, et cependant les fibres annulaires et spirales se montrent aussi. Elles sont même visibles, sans l'addition d'aucun réactif, dans le tissu cellulaire rétro-péritonéal recueilli chez des sujets œdématiés (fig. 122). Ces fibres existent donc sans aucun doute à l'état normal.

Pour déterminer leur nature et leurs rapports avec le faisceau qu'elles entourent, il est nécessaire de les colorer avant de les soumettre à l'action de l'acide; à cet effet, l'injection interstitielle est faite avec du picrocarminate. Une tranche mince de la gelée rosée que contient la boule d'œdème, mise sur une lame de verre et recouverte rapidement avec la lamelle, est abandonnée à elle-même pendant quelques heures dans une chambre humide (voy. Méthodes générales, p. 122). Elle est alors débarrassée de l'excès de matière colorante par un courant d'eau. Ce courant est produit en mettant sur un des bords de la lamelle une ou deux gouttes d'eau, tandis qu'un morceau de papier à filtrer placé au bord opposé attire le liquide par capillarité et le fait passer à travers la préparation. Lorsque l'excès de carmin

a disparu, les faisceaux présentent une coloration rouge. On dépose alors sur le bord de la lamelle quelques gouttes d'une solution d'acide acétique à 1 pour 100, et la préparation est bordée à la paraffine ou placée dans une chambre humide pour empêcher l'évaporation. Au bout de vingt-quatre heures, les faisceaux sont décolorés et gonflés sous l'influence de l'acide faible; les fibres annulaires et spirales ont conservé une couleur rouge vif; aux points où elles étreignent le faisceau, celui-ci a gardé sa dimension primitive, de sorte qu'entre deux anneaux rouges consécutifs il forme un ventre, à la manière d'un boudin (*a*, fig. 121). Les fibres spirales resserrent le faisceau d'une façon analogue.

Le gonflement qui se produit sous l'influence des acides faibles individualise le faisceau. Les ventres qu'il présente semblent indiquer qu'il est entouré d'une membrane d'enveloppe, mais celle-ci n'est pas évidente, et il est impossible d'en constater l'existence sur des faisceaux examinés dans leur longueur.

Pour s'assurer si cette enveloppe existe réellement et pour se rendre compte en même temps de la constitution intime des faisceaux, il faut en faire l'étude sur des coupes transversales. A cet effet, de toutes les méthodes que l'on peut employer, celle qui donne les meilleurs résultats consiste à plonger un petit fragment de peau muni de son tissu cellulaire dans l'alcool absolu pendant douze heures environ; puis il est mis pendant vingt-quatre heures dans une solution concentrée d'acide picrique, ensuite pendant vingt-quatre heures dans une solution sirupeuse de gomme, qui pénètre entre les différents éléments et comble les interstices. Enfin, il est placé dans de l'alcool ordinaire pendant vingt-quatre heures pour coaguler la gomme. Sur une pièce ainsi préparée, il est facile de faire des coupes minces. Après un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau distillée, la gomme est dissoute, et les coupes portées sur la lame de verre sont colorées au carmin et examinées dans de la glycérine contenant 1 pour 100 d'acide formique.

Comme les faisceaux conjonctifs traversent le tissu dans tous les sens, ils se trouvent coupés suivant des incidences variées; mais il n'est pas difficile d'en trouver qui ont été atteints transversalement. Toutefois, pour se procurer plus facilement des coupes transversales des faisceaux du tissu conjonctif, il faut choisir un tendon. Comme les faisceaux y sont tous parallèles, les coupes transversales les couperont tous transversalement. Pour l'étude que nous allons faire, les préparations de tendons sont donc préférables à celles du tissu cellulaire.

Les faisceaux de tissu connectif ainsi préparés, à un grossissement de 500 à 600 diamètres, se montrent entourés d'une couche circulaire rouge *a*, du bord intérieur de laquelle se détachent des cloisons *c* qui se dirigent vers leur centre et forment en s'anastomosant les unes avec les autres un système réticulé; on remarque en outre des points rouges (*f*, fig. 125) qui paraissent isolés. En abaissant peu à peu l'objectif de manière à examiner la coupe à différentes hauteurs, on reconnaît que ces points rouges correspondent à la section transversale de fibres qui partent des cloisons. Les

faisceaux conjonctifs sont donc, comme le montre cette observation, entourés d'une gaine, cloisonnés par des membranes qui partent de cette gaîne et parcourus obliquement par des fibres qui sont en continuité avec ces cloisons. Ces fibres, de même que les fibres annulaires et spirales, se distinguent nettement des fibres élastiques que nous étudierons un peu plus loin, car, comme nous venons de le voir, elles se colorent par le carmin, tandis que les fibres élastiques ne sont pas colorées par ce réactif[1].

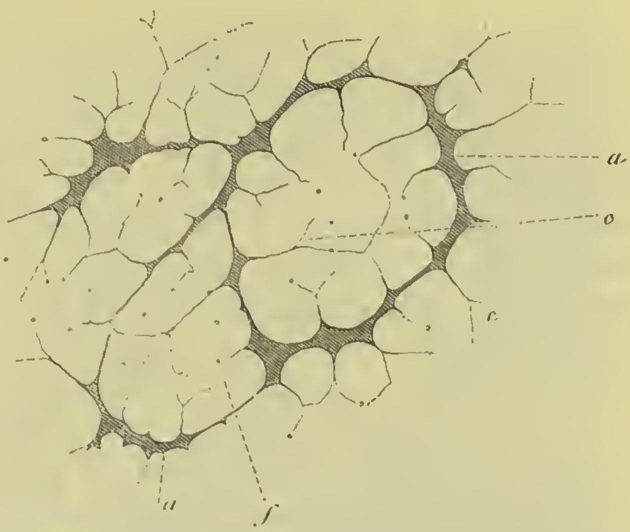


Fig. 125. — Coupe transversale d'un tendon de la queue d'un jeune rat, faite après l'action de l'acide picrique en solution concentrée. Coloration au carmin. — *a*. limite d'un faisceau; *c*. cloisons; *f*. fibres liées aux cloisons et coupées transversalement. — 400 diam.

Il nous reste à résoudre ou du moins à discuter à propos des faisceaux connectifs une question importante : quelle est la constitution intime de leur substance? est-elle amorphe ou fibrillaire?

Nous avons dit au début de ce chapitre que les faisceaux examinés simplement dans l'eau présentent une striation longitudinale. Cette striation s'accuse plus nettement encore lorsqu'on les traite par le sérum iodé. Ils sont nettement fibrillaires et sont comparables à une natte de cheveux non tressée. Outre la striation longitudinale, ils possèdent une striation transversale due à de fines ondulations des fibres. Cette dernière striation s'observe même quand les bords des faisceaux sont rectilignes et que par conséquent ils sont parfaitement tendus.

La striation longitudinale et la striation transversale disparaissent bientôt sur des faisceaux qui sont soumis pendant quelque temps à l'action de l'acide acétique faible. A leur place apparaît une striation oblique peu accusée qui dessine souvent des losanges (voy. fig. 121, *a*).

Sans nous arrêter plus longtemps à la description de ces divers aspects, revenons à la question à résoudre : la striation longitudinale correspond-elle à une structure fibrillaire?

L'existence des fibrilles est généralement considérée comme démontrée par les expériences de Rollett, d'après lesquelles l'eau de chaux ou de baryte les isolerait en dissolvant le ciment qui les unit. J'ai répété ces expériences,

1. Il est indispensable de faire remarquer ici que, si le durcissement avait été opéré au moyen de l'acide chromique, la substance fondamentale du faisceau, après le traitement par le carmin, ne demeurerait pas incolore, comme elle l'est sur les pièces qui ont été durcies dans l'alcool et dans l'acide picrique. Dans les préparations à l'acide chromique, les coupes transversales des faisceaux sont rouges dans toute leur étendue; les cellules demeurent incolores. Ce point est important à noter, parce que, dans les recherches d'anatomie pathologique, l'acide chromique est fort souvent employé comme réactif durcissant.

j'ai laissé des tendons dans de l'eau de baryte même pendant plusieurs mois, et je n'ai jamais réussi à les voir se diviser en fibrilles. Le tendon se gonfle, il devient transparent, comme dans les solutions alcalines faibles; on observe des stries à sa surface, mais il ne se résout pas en fibrilles. Il faut remarquer, du reste, que l'on a exagéré ce qu'a dit Rollett. Dans le Manuel de Stricker, il affirme seulement que par ce procédé on arrive à isoler les faisceaux, et *quelquefois* même les fibrilles[1].

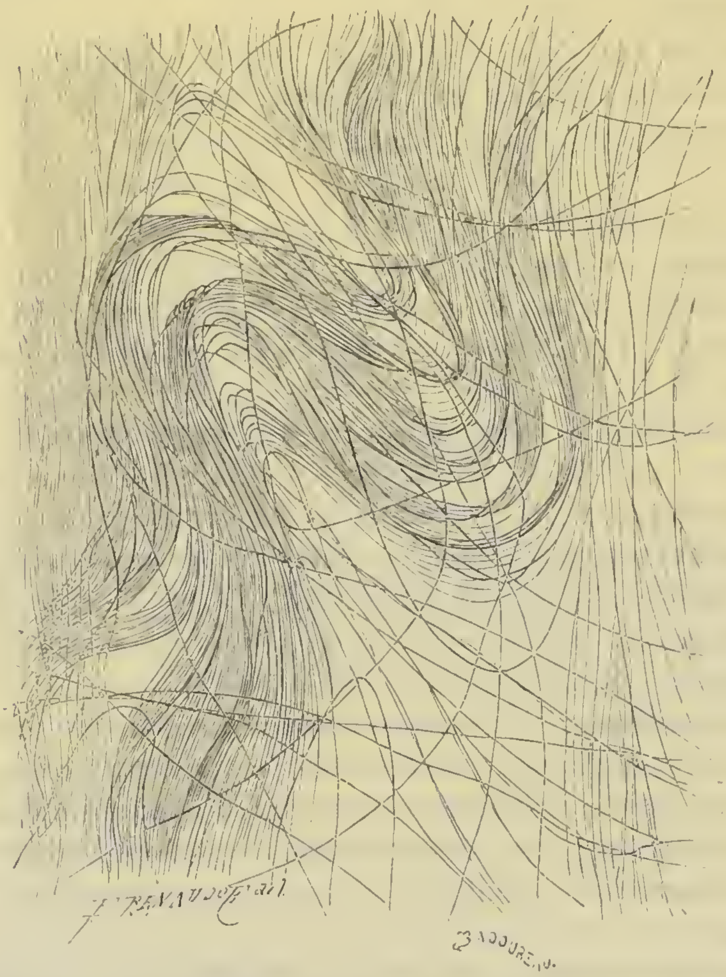


Fig. 124. — Tendon de l'homme dissocié avec les aiguilles après vingt-quatre heures de macération dans l'acide picrique. — Les faisceaux tendineux sont décomposés en fibrilles. — 800 diam.

La méthode à employer pour démontrer la structure fibrillaire des faisceaux de tissu conjonctif consiste à faire macérer un fragment de tendon dans de l'acide picrique en solution saturée ou dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, et à le dissocier ensuite avec des aiguilles. On peut isoler ainsi une multitude de fibrilles d'une grande finesse (fig. 124).

Les auteurs les décrivent comme n'ayant qu'un simple contour, mais c'est là seulement une manière de s'exprimer pour dire qu'elles sont d'une minceur extrême. On constate facilement qu'elles ont un double contour, quand on les examine à un grossissement de 800 à 1000 diamètres avec un bon objectif à immersion. Elles sont cylindriques et non pas aplaties. Ce qui prouve bien que ce sont des fibrilles et non des plis de la substance, c'est qu'on voit souvent des fibrilles isolées se recourber en divers sens et même s'accrocher les unes aux autres. Du reste, quand on examine du tissu conjonctif mort qui a macéré au milieu de l'organisme vivant, comme par exemple le tissu cellulaire sous-cutané dans le phlegmon, ou des tendons nécrosés, il suffit d'en secouer un fragment dans l'eau pour le voir se décomposer en fibrilles. Cette dernière observation est préférable à la première au point de vue de la démonstration de l'existence

1. *Rollett*, Stricker's Handbuch, etc., p. 55.

des fibrilles, puisque dans ce cas la dissociation est obtenue sans le secours d'aucun réactif coagulant.

Les faisceaux du tissu conjonctif jouissent à un haut degré de la double réfraction. Étendus dans l'eau sur la platine du microscope à polarisation, ils paraissent brillants dans toutes les positions, excepté lorsqu'ils sont compris dans les plans de polarisation des nicols croisés. Lorsqu'on examine des faisceaux un peu épais dans le baume, ils font même plus que rétablir la lumière, ils présentent des colorations intenses et variées.

En résumé, les divers procédés que nous venons d'appliquer à l'étude des faisceaux du tissu conjonctif nous ont montré que chacun d'eux est constitué par des fibrilles extrêmement minces. A sa surface, se trouve une couche spéciale qui lui forme une membrane d'enveloppe; cette membrane est soutenue de distance en distance par des fibres disposées autour d'elle soit en anneaux, soit en spirales; de sa surface interne partent des cloisons de même nature qu'elle, et qui forment dans l'intérieur du faisceau une sorte de charpente lamelleuse et fibrillaire.

Fibres élastiques. — Une boule d'œdème produite par une injection interstitielle de sérum fortement iodé permet de faire, par le procédé que nous avons décrit, des préparations dans lesquelles les fibres élastiques se voient très nettement.

Ces fibres sont colorées en jaune par l'iode et paraissent homogènes. Elles ont un diamètre variable, qui peut aller depuis 1 μ jusqu'à 10 μ. Elles sont en général rectilignes. Anastomosées les unes avec les autres, elles constituent des réseaux dont les mailles ont des formes et des dimensions très variées. Aux points d'entre-croisement des fibres, se trouvent souvent des trous ou des fentes. Parfois, d'une grosse fibre, il s'en détache une plus fine qui la rejoint plus loin ou bien va se fondre dans un réseau voisin. En certains points de la préparation, s'observent des fibres qui, au lieu d'être rectilignes, sont onduleuses, en zigzag ou en tire-bouchon. Ce sont des fibres dont les deux extrémités n'ont pas été fixées, et qui se sont repliées par suite du retrait des faisceaux de tissu conjonctif au milieu desquels elles se trouvent.

Dans les préparations faites par la méthode ancienne, les fibres élastiques sont toujours sinueuses, et, si l'on étudiait seulement des préparations de cette sorte, on serait porté à croire que c'est là leur forme naturelle.

La préparation étant faite au moyen d'une injection interstitielle de picrocarminate, les faisceaux connectifs sont, comme nous l'avons vu, colorés en rose, et les fibres annulaires en rouge. Les fibres élastiques, au contraire, sont colorées en jaune par l'acide picrique. Le picrocarminate s'est dédoublé; le carmin s'est porté sur les faisceaux, l'acide picrique sur les fibres élastiques. Ces fibres ne se colorent dans aucune autre solution de carmin, même après une macération prolongée. Ce fait prouve que les fibres spirales et annulaires qui se colorent en rouge par le carmin ne sont pas des fibres élastiques, bien qu'elles résistent, comme ces dernières, à l'action de l'acide acétique.

Étudiées à l'aide des procédés précédemment indiqués, les fibres élastiques paraissent homogènes. Cependant elles ne le sont pas. Pour reconnaître leur structure, il faut faire dans le tissu conjonctif sous-cutané une injection interstitielle d'acide osmique à 1 pour 100. La boule d'œdème ainsi produite est détachée tout entière et plongée pendant vingt-quatre heures dans la même solution; puis elle est placée dans l'eau distillée. Des fragments en sont détachés avec des ciseaux, dissociés avec les aiguilles et montés en préparations persistantes dans la glycérine. Dans ces préparations, les fibres élastiques, à un grossissement de 1000 diamètres, se montrent formées de grains réfringents lenticulaires ou sphériques, plongés dans une substance moins réfringente. A un grossissement de 300 à 400 diamètres, elles paraissent simplement striées en travers.

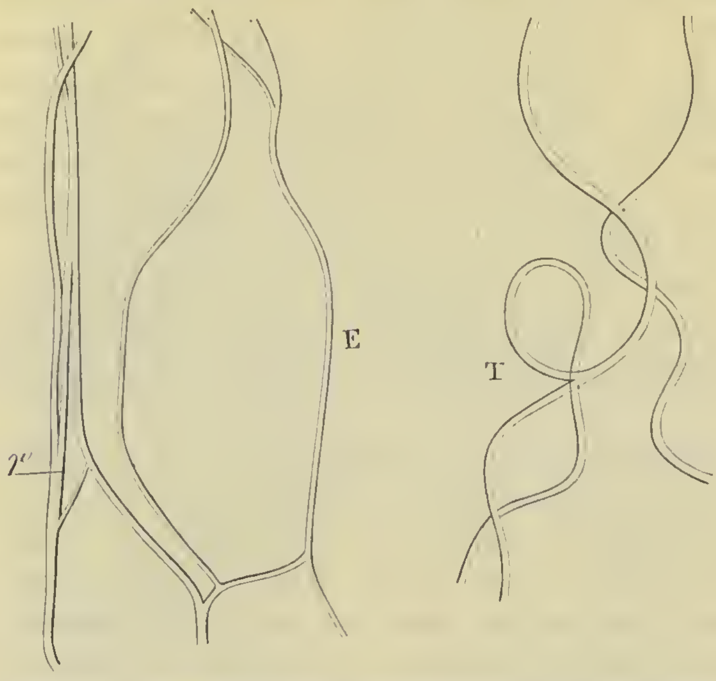


Fig. 125. — Fibres élastiques du tissu conjonctif diffus sous-cutané du chien, observées dans une préparation obtenue par injection interstitielle de sérum fortement iodé. — E, fibres élastiques anastomosées en réseau et tendues; r, réticulation serrée; T, fibres élastiques non tendues et tortueuses. — 800 diam.

La potasse à 10 pour 100 fait disparaître tous les éléments du tissu conjonctif à l'exception des fibres élastiques. Ce procédé convient donc pour l'étude des réseaux élastiques.

L'éosine en solution alcoolique, appliquée à la coloration des tissus après l'action de l'alcool, de l'acide picrique ou des bichromates alcalins, colore les fibres élastiques en rose.

Nous avons vu les fibres élastiques prendre une coloration jaune sous l'influence du picrocarminate employé en injection interstitielle. On peut y produire la même coloration dans des coupes. A cet effet, un fragment de peau muni de sa couche de tissu cellulaire sous-cutané est plongé dans l'alcool ordinaire pendant vingt-quatre heures. On en fait des coupes qui, placées dans l'eau, puis montées en préparations dans le picrocarminate additionné de glycérine, montrent les fibres élastiques colorées en jaune par l'acide picrique, tandis que les autres éléments du tissu présentent des colorations diverses, en rapport avec leurs élections spéciales pour la matière colorante.

Cellules. — *Cellules connectives.* — Les cellules connectives ont été l'objet de nombreuses discussions. Leur existence même a été longtemps contestée.

Henle signala le premier dans le tissu conjonctif, outre les faisceaux, des corps spéciaux qu'il appela *fibres de noyaux* (Kernfasern), et qu'il faisait

apparaître par l'action de l'acide acétique. Sous le nom de fibres de noyaux, cet auteur a confondu les noyaux de cellules, les fibres élastiques, les fibres spirales et probablement aussi le système de fibres intra-fasciculaires que j'ai décrites[1]. Il n'a pas vu les cellules proprement dites. Les moyens dont il disposait ne lui permettaient pas de faire à ce sujet une observation plus rigoureuse.

Virchow reprit les mêmes observations, et voyant, parmi les fibres de noyaux de Henle, certains corps qui avaient une forme radiée et qui se distinguaient par leur coloration par le carmin, il les considéra comme les cellules du tissu conjonctif. La forme de ces corps les rapprochait des corpuscules osseux et venait donner une confirmation à la théorie de Reichert sur l'analogie des tissus de substance conjonctive. Aussi les histologistes se rallièrent-ils à peu près tous à l'opinion de Virchow, et finalement l'existence de la cellule plasmatique ne fut plus contestée que par Henle, son école et les partisans français de sa doctrine.

Par la méthode des injections interstitielles, je suis arrivé à une conception toute différente de celle de Virchow, que j'avais partagée pendant un temps. Les résultats que donne cette méthode sont si nets qu'aujourd'hui aucun histologiste sérieux et indépendant ne soutient plus la manière de voir de Virchow.

Cet auteur examinait le tissu conjonctif après l'avoir traité par l'acide acétique, qui modifie complètement les cellules. Il est essentiel d'en fixer la forme avant de soumettre le tissu à cet agent modificateur. On y réussit en faisant dans le tissu cellulaire sous-cutané une injection de nitrate d'argent à 1 pour 1000. Lorsqu'il est ainsi dilué, ce réactif n'imprègne pas les cellules, mais il les fixe, et lorsque ensuite on les traite, soit par l'eau, soit par l'acide acétique faible, elles conservent leur forme.

Un fragment de la boule d'œdème produite par l'injection de la solution de nitrate d'argent est enlevé avec des ciseaux; il est placé sur la lame de verre avec quelques gouttes de picrocarminate, recouvert d'une lamelle et mis ensuite pendant vingt-quatre heures dans une chambre humide. Au bout de ce temps, une ou deux gouttes de glycérine sont déposées sur le bord de la lamelle et se mêlent au picrocarminate. La préparation est ainsi rendue persistante.

On y voit, outre les faisceaux et les fibres dont il a été question, de grandes plaques granuleuses ayant une teinte rouge brun légère et munies d'un noyau coloré en rouge. Certaines de ces cellules ont exactement la forme des cellules endothéliales, c'est-à-dire qu'elles sont minces, polygonales et régulières ; d'autres présentent un ou plusieurs prolongements à l'aide desquels elles s'anastomosent[2]. Elles sont toujours plates et si minces que, lorsqu'elles ne sont pas colorées, elles échappent facilement à l'observation. Vues de profil, elles paraissent fusiformes; mais il est facile de constater que ce n'est pas leur forme réelle. Examinées attentivement avec un fort

1. *Archiv. de physiol.*, 1869, p. 485.
2. *Ranvier*, Sur le tissu conjonctif. (*Arch. de physiol.*, 1869, p. 482.)

objectif, elles montrent au niveau du noyau, dans le sens de leur longueur, une strie fine qui peut se prolonger jusqu'aux extrémités; cette strie représente le bord de la cellule qui avance vers l'œil de l'observateur. Souvent aussi ce bord est déjeté et forme, sur le côté du noyau, une ligne frangée, très pâle et difficile à apercevoir.

Lorsque l'on s'est convaincu de l'existence de ces cellules et que l'on a appris à les voir par le moyen que nous venons de décrire, il est facile de les reconnaître à l'aide de la plupart des autres procédés. Les injections interstitielles de sérum, de sérum iodé, d'alcool au tiers et de picrocarminate fournissent des préparations où elles sont nettement visibles, lorsque l'on emploie pour les examiner un objectif fort et à grand angle d'ouverture.



Fig. 126. — Tissu conjonctif sous-cutané du chien adulte, préparé par injection interstitielle d'une solution au nitrate d'argent à 1 pour 1000, coloré avec le picrocarminate et conservé dans la glycérine additionnée d'acide formique. — *a*, faisceaux conjonctifs munis de fibres annulaires; *b*, fibres élastiques; *c*, cellules plates vues de face; *c'*, les mêmes vues de profil; *n*, cellules lymphatiques. — 400 diam.

Si la boule d'œdème a été produite par injection d'eau, les cellules sont ratatinées, et elles se présentent alors comme des corps irréguliers et anguleux dans lesquels il est cependant encore possible de distinguer le noyau.

La forme de ces cellules connectives étant connue, il reste à savoir la manière dont elles sont disposées par rapport aux faisceaux. Dans les préparations faites par injection interstitielle, elles se trouvent généralement à côté d'eux et n'y adhèrent que par exception; mais on peut fort bien admettre qu'elles ont été déplacées par la dissociation qu'a produite le liquide injecté.

Pour connaître la position normale des cellules, il est nécessaire d'examiner des coupes perpendiculaires à la direction des faisceaux. A cet effet, un fragment de peau est placé dans l'alcool pendant douze heures, puis dans l'acide picrique pendant vingt-quatre heures. Ensuite il est plongé pendant vingt-quatre heures dans une solution sirupeuse de gomme qui en comble les insterstices et enfin pendant vingt-quatre heures dans de l'alcool qui coagule la gomme et durcit le tissu. Les coupes sont placées pendant vingt-quatre heures dans de l'eau. Lorsqu'elles sont débarrassées de la gomme, elles sont colorées au picrocarminate, lavées, et examinées dans de la glycérine contenant 1 pour 100 d'acide formique.

Parmi les faisceaux qui se présentent dans la préparation, il faut choisir, pour les étudier, ceux qui sont coupés transversalement. Ils sont colorés en rose et ils se reconnaissent facilement, grâce à l'anneau plus fortement teinté que forme leur gaine. Sur certains d'entre eux, on aperçoit autour de cette gaine un croissant ou un cercle complet de protoplasma granuleux, au milieu duquel se montre un corps ellipsoïde plus fortement coloré, qui correspond au noyau.

De cette observation, il faut conclure qu'à l'état normal les cellules connectives sont appliquées sur les faisceaux comme des cellules endothéliales. Cependant ce n'est pas là un véritable endothélium, puisque les cellules connectives ne se touchent pas par leurs bords[1].

Cellules adipeuses. — Dans le tisssu cellulo-adipeux dissocié et examiné dans l'eau, les cellules adipeuses apparaissent au milieu d'un réseau plus ou moins embrouillé de filaments comme des masses globuleuses réfringentes. Il est rare qu'elles se trouvent isolées d'une façon complète; presque toujours elles conservent avec le reste du tissu une certaine adhérence. C'est du tissu adipeux du chien qu'il est le plus facile de les dégager tout à fait, probablement parce que chez cet animal la membrane d'enveloppe des cellules est plus résistante. Sur quelques-unes d'entre elles se distingue un noyau marginal, aplati. Pour qu'il soit visible, il faut qu'il se présente de profil.

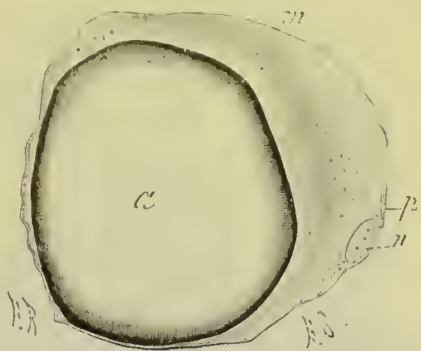


Fig. 127. — Cellule adipeuse isolée du tissu conjonctif diffus sous-cutané du chien, après injection interstitielle de nitrate d'argent à 1 pour 1000. — *m*, membrane; *n*, noyau entouré de protoplasma granuleux *p*; *a*, boule de graisse. — 500 diam.

Les cellules adipeuses recueillies vingt-quatre heures après la mort, contiennent habituellement des aiguilles cristallines qui partent en rayonnant d'un point central; ce sont des cristaux de margarine.

Le moyen employé d'ordinaire pour démontrer la membrane d'enveloppe des cellules adipeuses consiste à plonger dans l'éther un très petit fragment de tissu adipeux et à l'y maintenir pendant vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, la graisse est dissoute, et la membrane cellulaire revenue sur elle-même forme des plis.

La méthode que nous employons pour examiner les cellules adipeuses nous permet de les voir avec tout ce qui les constitue, noyau, enveloppe

1. Dans certaines conditions, ces cellules peuvent éprouver en très peu de temps des modifications remarquables. Ainsi, quand on produit chez le chien un œdème expérimental en liant la veine cave inférieure et en coupant un des nerfs sciatiques, il suffit de prendre, vingt-quatre heures après l'opération, un fragment du tissu cellulaire œdématié et d'en faire une préparation, pour voir que les cellules ne sont plus plates; elles sont devenues globuleuses, et leur protoplasma est chargé de granulations spéciales qui sont formées d'une substance albuminoïde et de graisse. En ce court espace de temps, la lame de protoplasma si mince, si inerte en apparence, qui constitue ces cellules, peut donc changer complètement de forme et de volume, et subir une transformation complète. (*Des lésions du tissu conjonctif lâche dans l'œdème.* Comptes rendus, avril 1872.)

et masse graisseuse. C'est à cette méthode que nous nous arrêtons, parce qu'il suffit ainsi d'une seule préparation pour donner une notion exacte et complète de ces cellules.

D'un animal que l'on vient de tuer, un chien par exemple, on détache un fragment de peau muni du tissu cellulo-adipeux, et tandis qu'il est encore chaud on y pratique une injection interstitielle avec une solution de nitrate d'argent à 1 pour 1000. Une mince tranche de la boule d'œdème ainsi produite, enlevée avec des ciseaux courbes, portée sur la lame de verre et recouverte de la lamelle, montre les cellules adipeuses sous un aspect que l'on ne soupçonnerait pas si l'on n'avait employé pour les préparer que les moyens ordinaires.

Elles ont la forme d'un utricule limité par une membrane caractérisée par un double contour. La graisse, reconnaissable à sa réfringence, n'occupe qu'une portion de sa cavité; le reste est rempli d'un liquide séreux; en un point se montre un noyau vésiculeux muni d'un ou deux nucléoles. Quelquefois, mais rarement, une cellule contient deux noyaux.

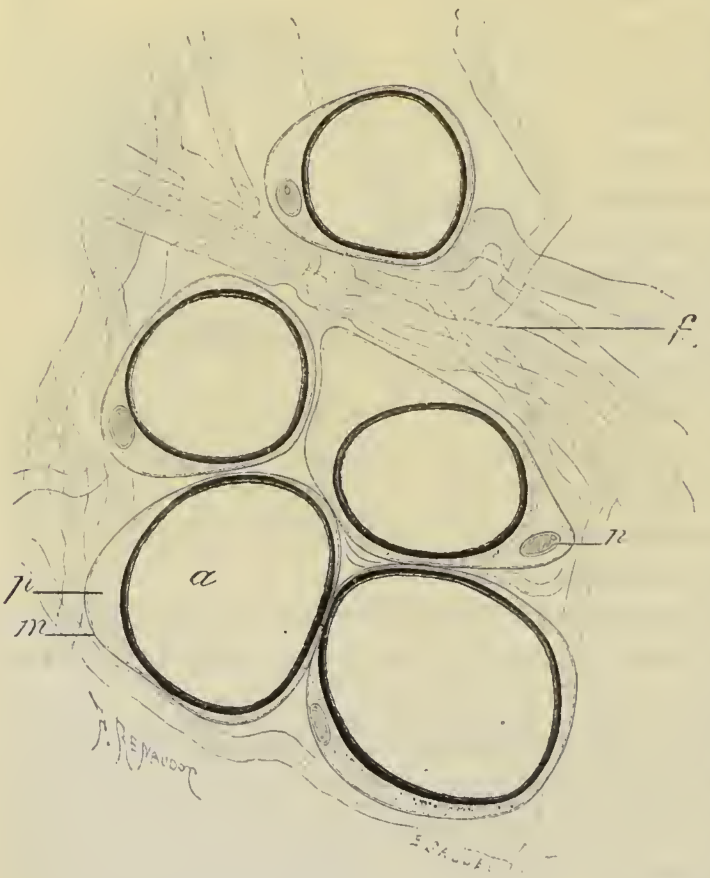


Fig. 128. — Tissu cellulo-adipeux sous-cutané du chien, préparé par injection interstitielle de nitrate d'argent à 1 pour 1000. — *a*, boule de graisse; *p*, protoplasma; *n*, noyau; *m*, membrane de la cellule; *f*, faisceau conjonctif. — 200 diam.

La cellule adipeuse est en réalité constituée, par une membrane homogène transparente, tapissée à l'intérieur d'une lame de protoplasma dans laquelle est contenu le noyau. Le milieu de la cellule est occupé par une masse graisseuse, séparée du protoplasma par une zone qu'occupe un liquide transparent.

Dans les préparations du tissu adipeux faites par injection interstitielle de picrocarminate et conservées dans la glycérine, la membrane enveloppe exactement la masse graisseuse. Les noyaux colorés en rouge sont facilement reconnaissables, quelle que soit leur position par rapport à l'œil de l'observateur. Lorsqu'ils se présentent de profil, on les voit dans un mince croissant rosé qui est la coupe optique du protoplasma.

L'acide osmique a la propriété de colorer la graisse en brun noirâtre. La meilleure manière d'appliquer ce réactif à l'étude du tissu adipeux, est d'y

faire des injections interstitielles avec une solution à 1 pour 100. Il serait plus simple de plonger un fragment du tissu dans la solution. La coloration se produirait aussi; mais l'avantage de l'injection interstitielle consiste en ce que, pénétrant en même temps autour dans chaque cellule adipeuse, la solution produit immédiatement sur elle la réaction caractéristique. En outre, à la périphérie de la boule d'œdème artificiel, les cellules adipeuses ne sont pas également colorées. Tandis qu'au centre, transformées en une masse noire, elles ne laissent plus reconnaître ni leur protoplasma, ni leur noyau, quelques-unes des périphériques sont à peine teintées de jaune brun. Ces dernières, soumises à l'action du picrocarminate, montrent nettement leur croissant protoplasmique et leur noyau. De plus, leur membrane présente des plis facilement reconnaissables et tout à fait caractéristiques. Ces plis sont dus à ce que la membrane, fixée par l'osmium, a perdu sa rétractilité. Ils ne sont pas visibles dans les préparations ordinaires colorées et montées dans la glycérine, parce que, dans ces conditions, la membrane n'a pas perdu cette propriété, et que dès lors elle vient s'appliquer exactement sur le contenu cellulaire.

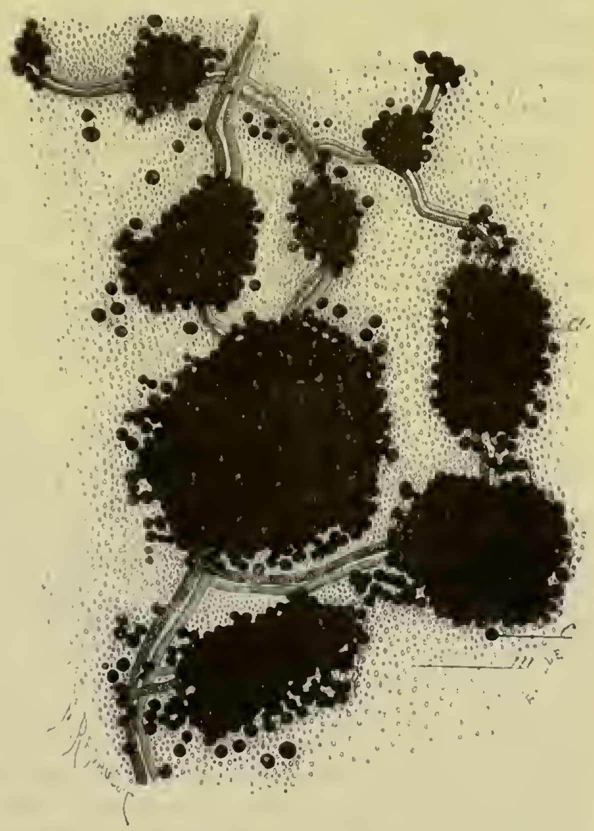


Fig. 129. — Lobule adipeux d'un embryon de bœuf de 35 centimètres. Préparation obtenue par injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 300, et conservée dans la glycérine. — *a*, lobule adipeux; *c*, cellule adipeuse isolée à la périphérie du lobule; *m*, tissu conjonctif embryonnaire; *v*, vaisseau sanguin. — 50 diam.

Une mince couche de tissu adipeux dissocié, traité sur la lame de verre par une solution alcoolique de bleu de quinoléine, montre les cellules adipeuses colorées en bleu. Cette coloration se conserve et devient même plus intense si la préparation, colorée et lavée, est soumise ensuite à l'action de la potasse à 40 pour 100.

Des coupes du tissu adipeux, après durcissement par l'alcool, peuvent être soumises au même traitement. Les cellules adipeuses s'y présentent avec des caractères identiques[1].

1. Les modifications pathologiques que subit la cellule adipeuse présentent de l'intérêt au point de vue de sa constitution histologique. Chez le chien, dans les œdèmes produits expérimentalement, les cellules adipeuses sont déjà profondément modifiées vingt-quatre heures après le début de l'hydropisie. Le protoplasma contient des gouttelettes de graisse, de sorte que la masse graisseuse centrale se montre entourée comme d'un collier de grains brillants.

Dans l'inflammation, il se produit une multiplication des noyaux et une hypertrophie du

Cellules lymphatiques. — Une préparation de tissu conjonctif faite par injection interstitielle montre, outre les cellules adipeuses et les cellules connectives plates, des cellules arrondies qui ont tous les caractères des cellules lymphatiques. Il y a de ces cellules dans toutes les parties du tissu conjonctif diffus, mais elles se trouvent toujours en plus grand nombre au voisinage des cellules adipeuses. La question de l'origine de ces cellules n'est pas encore résolue. Elles peuvent venir du système vasculaire et être sorties des vaisseaux par diapédèse; elles peuvent aussi provenir d'une prolifération des cellules connectives fixes; ou enfin, vivant dans la lymphe du tissu conjonctif, elles peuvent s'y être reproduites par division, et dès lors ce tissu devait être considéré comme un lieu de production des cellules lymphatiques[1]. Jusqu'à présent il est impossible d'appuyer l'une ou l'autre de ces hypothèses sur des faits ayant une valeur expérimentale[2].

Tissu conjonctif diffus dans son ensemble. — Nous venons de passer en revue les différents éléments du tissu conjonctif diffus. Les méthodes que nous avons employées ne nous les montrent pas isolément, de telle sorte qu'elles nous permettent, non seulement d'étudier chacun de ces éléments

protoplasma, avec résorption graduelle de la masse graisseuse; finalement, le protoplasma se segmente, et il s'en répartit autour de chaque noyau, de telle sorte que la cellule adipeuse devient ainsi une sorte de nid de cellules embryonnaires.

Dans l'amaigrissement, il s'accumule à l'intérieur de la membrane une grande quantité de liquide séreux, tandis que la graisse diminue progressivement. C'est, notamment, ce que l'on observe dans les appendices épiploïques de la grenouille à la fin de l'hiver. Les cellules adipeuses sont alors remplies d'un liquide séreux, au milieu duquel nage librement une granulation ayant la réfringence de la graisse, et dont la couleur est jaune ambré.

1. Dans certaines conditions, le nombre des cellules lymphatiques du tissu conjonctif augmente considérablement. C'est ce qui se produit dans l'œdème soit spontané, soit expérimental. Dans l'inflammation, leur nombre peut être encore beaucoup plus considérable, mais la présence d'un grand nombre de cellules lymphatiques dans les mailles du tissu conjonctif ne suffit pas pour caractériser l'inflammation, comme Cohnheim l'a soutenu. En effet, ainsi qu'on vient de le voir, ce phénomène peut se produire dans l'œdème, état que les médecins n'ont jamais compris dans les phlegmasies. Du reste, à propos des vaisseaux capillaires, nous reviendrons sur la diapédèse des globules blancs et nous montrerons qu'elle existe à l'état physiologique et dans une série de modifications non inflammatoires; elle ne saurait donc, à elle seule fournir une définition de l'inflammation.

2. On trouve dans certaines régions, entre les faisceaux du tissu conjonctif, outre les cellules plates, les cellules lymphatiques et les cellules adipeuses, d'autres cellules spéciales. C'est un fait sur lequel Waldeyer (Ueber Bindegewebszellen, *Arch. f. microsc. Anatomie XI*, 1874, p. 186) a beaucoup insisté. Il a considéré ces cellules comme des cellules particulières du tissu conjonctif. C'est ainsi que certains groupes de cellules du testicule et toutes les cellules dites parenchymateuses des capsules surrénales seraient des cellules connectives. Nous ferons seulement remarquer ici qu'il peut exister dans les mailles du tissu conjonctif des cellules ou des groupes de cellules qui, par leurs fonctions et par leur développement ultérieur, doivent être distinguées des cellules connectives proprement dites. C'est ainsi que, lorsque nous étudierons les vaisseaux, nous verrons qu'au milieu des cellules plates et des cellules lymphatiques du tissu conjonctif, il existe parfois des cellules particulières destinées à former des vaisseaux et que nous avons appelées vasoformatives. Du reste, on ne doit pas considérer comme de nature connective tous les éléments ou tous les groupes d'éléments qui sont plongés dans le tissu conjonctif, car, s'il en était ainsi, un vaisseau capillaire, un tube nerveux, un faisceau musculaire, qui tous sont contenus dans des mailles de ce tissu, devraient faire partie du système conjonctif.

dans son individualité, mais encore de voir dans quel rapport ils sont entre eux. C'est ainsi que les faisceaux conjonctifs nous ont paru se continuer avec le même diamètre dans une grande longueur, sans se diviser ni se réunir. Plus tard, en étudiant le tissu conjonctif dans les membranes et dans la peau, nous verrons qu'il n'en est pas toujours ainsi.

Une autre question se pose à propos des fibres que l'on observe dans le tissu conjonctif diffus. Les fibres élastiques et les réseaux élastiques sont-ils indépendants des faisceaux de tissu conjonctif? Un faisceau de tissu conjonctif peut-il contenir dans son intérieur, au milieu des fibres connectives proprement dites, des fibres élastiques? Il est important de soulever cette dernière question parce que dans la plupart des traités classiques d'histologie se trouvent figurés des faisceaux de tissu conjonctif contenant des fibres élastiques (voy. par exemple Frey, édit. française, p. 244, fig. 201).

Lorsque des faisceaux ont été dissociés par la méthode des injections interstitielles et individualisés par le traitement à l'acide acétique, jamais je n'ai vu, dans l'intérieur d'un faisceau, ni fibres élastiques, ni éléments cellulaires d'aucune sorte. Les fibres élastiques que l'on observe dans le tissu conjonctif diffus se montrent à côté des faisceaux et paraissent en être indépendantes.

Les cellules plates occupent aussi les interstices laissés entre les faisceaux, du tissu conjonctif, et, comme l'établit l'observation des coupes transversales, elles sont appliquées à leur surface, sur laquelle elles semblent moulées et dont elles prennent l'empreinte. Les observations que nous poursuivrons sur les membranes de tissu conjonctif et sur le tissu conjonctif lamelleux établiront qu'une cellule plate peut reposer sur plusieurs faisceaux de tissu conjonctif disposés en natte.

Les cellules lymphatiques sont complètement libres dans les interstices des faisceaux connectifs. Elles y cheminent au milieu du plasma de la lymphe connective, et celui-ci est disposé entre les différentes fibres, à la manière d'un liquide qui imbiberait un paquet de chanvre teillé.

Du reste, nous reviendrons sur ces généralités et sur la signification morphologique du tissu cellulaire, lorsque nous aurons étudié les autres variétés du tissu conjonctif.

TENDONS ET EXPANSIONS TENDINEUSES.

Tendons. — Les tendons paraissent au premier aspect présenter peu d'analogie avec le tissu conjonctif diffus ; ils sont cependant composés des mêmes fibres (faisceaux conjonctifs et fibres élastiques) et font, à ce titre, partie du système conjonctif. Mais, dans la série des tissus qui sont à ranger dans ce système, ils occupent l'autre extrémité. Entre eux et le tissu cellulaire sous-cutané se placent une série de formes intermédiaires. Si nous étudions tout d'abord cette forme de tissu si différente en apparence de celui que nous venons d'examiner en détail, c'est pour donner immédiatement une idée de la variété des dispositions que peuvent affecter les éléments

du système conjonctif. Les formes intermédiaires seront ensuite comprises beaucoup plus facilement.

Pour faire l'étude des tendons, il est bon d'en choisir de très grêles qui puissent être examinés dans leur intégrité, sans qu'il soit nécessaire d'y pratiquer aucune section. Ceux qui conviennent le mieux pour cet usage sont les tendons qui terminent les muscles spinaux dans la queue des petits mammifères (rat, souris, taupe, etc.), ou encore les tendons extenseurs et fléchisseurs des doigts de la grenouille.

La queue d'une souris ou d'un rat, coupée au voisinage de sa base, est dépouillée de sa peau; on pince alors avec les ongles l'extrémité de cette queue dans l'interstice de deux vertèbres, de manière à rompre les tissus mous. Les tendons résistent, et, en tirant doucement et d'une manière soutenue sur le fragment détaché, on obtient des filaments blanchâtres qui ont plusieurs centimètres de longueur et qui sont constitués par quelques tendons accolés. Chez la grenouille, il faut disséquer la patte pour obtenir les tendons des doigts.

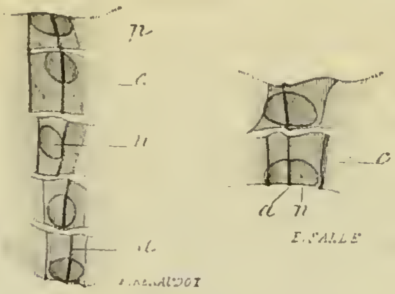


Fig. 150. — Cellules des tendons de la queue de la souris. Picrocarminate. Acide acétique. Glycérine formiquée. — *c*, cellules; *p*, prolongements latéraux; *n*, noyaux; *a*, crêtes d'empreinte. — 525 diam.

Les tendons isolés sont étendus sur une lame de verre et fixés à leurs deux extrémités avec de la cire à cacheter ou avec de la paraffine, pour les empêcher de se rétracter sous l'influence des réactifs que l'on emploiera. Ils sont ensuite colorés avec quelques gouttes de picrocarminate, puis, lavés à l'eau distillée. On ajoute alors une goutte de glycérine additionnée d'acide acétique ou d'acide formique, et on recouvre d'une lamelle.

Ainsi traité, le tendon, examiné à un grossissement de 100 diamètres, présente deux bords rectilignes, et dans sa substance, qui est incolore, se montrent des traînées longitudinale colorées en rouge, minces et à peu près parallèles. A un grossissement plus considérable, on voit que ces traînées sont formées d'éléments cellulaires placés bout à bout. Si l'on appuie sur la lamelle avec une aiguille, de manière à aplatir le tendon, ces éléments changent de forme et deviennent des plaques rectangulaires rouges dans lesquelles on distingue un noyau plus fortement coloré (fig. 150). Ce noyau n'est pas toujours au centre de la cellule, souvent il est situé au voisinage d'un de ses bords, et alors, dans une rangée de cellules, les noyaux sont placés symétriquement deux par deux; c'est-à-dire que si l'on rabattait l'une sur l'autre deux cellules voisines, les noyaux se correspondraient.

Ces cellules sont incurvées en forme de tuiles. Elles présentent dans leur longueur des lignes plus colorées (*a*, fig. 150); ce sont ces lignes que F. Boll a appelées des stries élastiques[1]. Le plus souvent il se trouve deux stries plus colorées sur les deux bords latéraux de la plaque cellulaire; d'autres fois,

1. *F. Boll*, Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Gewebe. (*Arch. f. microsc. Anat.*, 1871, p. 381.)

il y en a trois, deux sur les bords et une sur la ligne médiane; dans les tendons du chien adulte, j'ai même pu voir cinq stries longitudinales sur la même cellule.

Dans quelques-unes des cellules, qui semblent d'abord limitées par deux bords latéraux fortement colorés en rouge, en examinant avec plus d'attention, on remarque qu'au delà, le corps de la cellule se poursuit encore sous la forme d'expansions membraneuses très légèrement colorées, en formes d'ailes (*p*, fig. 150), qui partent des bords et s'étendent latéralement de manière à donner à ces cellules une extension trois ou quatre fois plus considérable que celle qu'on leur attribuait au premier abord[1].

Les histologistes se sont divisés sur la signification de ces stries colorées. Nous allons indiquer les procédés à l'aide desquels on peut se convaincre qu'elles correspondent en réalité à des crêtes saillantes, dont la connaissance exacte aide beaucoup, comme nous le verrons dans la suite, à comprendre la forme et la disposition des cellules tendineuses.

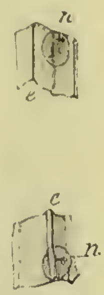


Fig. 151. — Deux cellules isolées des tendons de la queue d'un rat. Acide osmique. Picrocarminate. Dissociation avec les aiguilles. — Conservation dans la glycérine. — *n*, noyaux; *e*, crêtes d'empreinte. — 550 diam.

1° Les tendons sont plongés d'abord pendant vingt-quatre heures dans l'alcool absolu, puis dans l'eau distillée, ensuite ils sont colorés au picrocarminate et aplatis dans de la glycérine acidifiée avec 1 pour 100 d'acide formique. Dans ces préparations, les cellules sont très nettes, l'alcool leur a donné une plus grande consistance et les a fixées dans leur forme physiologique. En les examinant avec un objectif à grand angle d'ouverture, on y voit les stries en question. En faisant varier le point de la vision distincte, on constate que certaines de ces stries deviennent brillantes quand on éloigne l'objectif, obscures quand on le rapproche, et qu'elles sont nettes et distinctes quand le corps de la cellule est encore au delà du point. Ces raies obscures ne sont donc pas des stries, mais les crêtes saillantes à la surface du noyau et de la cellule (voy. p. 15).

2° Un autre procédé consiste à placer le tendon pendant un jour dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100; puis à le plonger pendant vingt-quatre heures dans le picrocarminate, et à l'examiner ensuite dans la glycérine additionnée de 1 pour 100 d'acide formique. Il n'est pas besoin dans ce cas de maintenir le tendon en extension, car l'acide osmique a fixé les éléments et empêche le tissu de se rétracter.

3° Après l'action de l'acide osmique et du picrocarminate on dissocie le tendon avec des aiguilles, et, on peut ainsi sans grande difficulté isoler les cellules tendineuses. Ces cellules roulant alors dans le liquide de la préparation se présentent tantôt de face, tantôt de profil, et laissent voir nettement la saillie que forment leurs crêtes.

Lorsqu'un tendon fixé par l'alcool absolu, coloré au carmin et aplati sans

1. Voy. *Grünhagen*, Notiz über die Ranvier'schen Sehnenkörper, *Arch. f. microsc. Anat.*, 1873, p. 282.

extension dans un mélange de glycérine et d'acide formique, est revenu sur lui-même par suite du gonflement de la substance fibrillaire, les cellules et les groupes qu'elles forment ont des aspects très variés, quelquefois même bizarres; mais aujourd'hui tous peuvent facilement s'expliquer. Les traînées cellulaires qui ont échappé au retrait se montrent comme des de rubans très legèrement colorés, contenant de distance en distance des plaques rouges, groupées deux par deux, qui représentent des noyaux, et toute l'image est disposée très régulièrement. On peut la comparer à un ruban composé de bandes transversales alternativement roses et rouges, dont les rouges auraient toutes la même longueur, tandis que les roses seraient inégales, alternativement larges et étroites. Il est facile de comprendre que ce ruban est formé de cellules rectangulaires soudées les unes aux autres et contenant des noyaux symétriquement placés. Le plus souvent il est parcouru dans sa longueur par des crêtes parallèles ou légèrement obliques à ses bords.



Fig. 152. — Tendon de la queue d'un jeune rat. Acide osmique. Picrocarminate. Dissociation avec les aiguilles. Conservation dans la glycérine. Faisceau tendineux isolé recouvert d'une rangée de cellules. — *c*, cellule; *f*, faisceau : *e*, crête d'empreinte. — 500 d.

Dans les traînées cellulaires qui ont subi un retrait, les plaques rouges qui correspondent aux noyaux restent unies, tandis que les portions intermédiaires roses, qui représentent le reste de la cellule et qui sont plus souples, forment des replis; on peut suivre sur ces sinuosités les crêtes longitudinales dont il a déjà été question. Enfin les rubans cellulaires, tendus ou revenus sur eux-mêmes, peuvent se présenter de profil, de trois quarts, ou bien ils montrent les inflexions les plus variées.

La forme des cellules étant reconnue, il nous reste à savoir comment elles sont disposées dans le tendon par rapport aux faisceaux et d'où proviennent ces crêtes longitudinales saillantes qu'elles présentent à leur surface.

Voici à quels procédés il faut avoir recours pour résoudre ces questions. Des tendons de la queue du rat ou de la souris, soumis à l'action de l'acide osmique et colorés par le picrocarminate, il est facile d'obtenir par dissociation au moyen des aiguilles des faisceaux tendineux isolés qui sont recouverts sur une partie de leur surface de cellules disposées en séries. Ces cellules sont moulées sur les faisceaux et leur sont adhérentes (*c*, fig. 152). Elles se correspondent par des bords dont la direction est perpendiculaire ou oblique à l'axe du faisceau et possèdent des crêtes d'empreinte longitudinales placées soit sur leur face libre, soit sur leur face adhérente. Dans ce dernier cas, les crêtes semblent s'insinuer dans l'angle laissé par plusieurs faisceaux secondaires séparés par des cloisons dont nous allons bientôt parler.

Cette première observation établit que les cellules tendineuses sont appliquées à la surface d'un faisceau et s'y moulent exactement. Mais pour compléter ces notions, il est nécessaire de faire et d'étudier des coupes transversales des tendons. A cet effet, un tronçon de la queue d'une souris est plongé dans l'acide picrique pendant deux à trois jours, jusqu'à décalcification de ses parties osseuses, puis il est inséré dans un fragment de moelle de sureau. On en fait alors des coupes transversales, qui sont colorées au picrocarminate et examinées dans de la glycérine additionnée d'acide formique. A la périphérie des tendons coupés en travers, se montrent des noyaux disposés sur une seule couche, aplatis suivant la surface et contenus dans un lacis de fibres. A l'intérieur (fig. 133), se trouvent des corps rouges étoilés qui rappellent les corpuscules osseux, mais qui ne disparaissent pas quand on éloigne ou quand on rapproche l'objectif. Ils s'étendent donc dans toute l'épaisseur de la coupe.

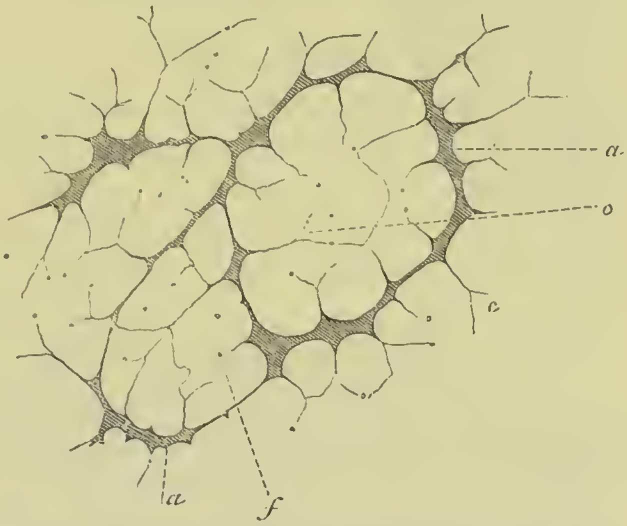


Fig. 133. — Coupe transversale d'un tendon de la queue d'un jeune rat, faite après l'action de l'acide picrique en solution concentrée. Coloration au carmin. — *a*, limite d'un faisceau; *c*, cloisons; *f*, fibres liées aux cloisons et coupées transversalement. — 100 diam.

Ces figures stellaires ont été considérées par Virchow comme des cellules de tissu conjonctif, il les a appelées cellules plasmatiques et les a considérées comme les analogues des corpuscules osseux. Henle, au contraire, a toujours soutenu que ces figures sont simplement produites par les bords de faisceaux voisins coupés en travers. En effet, les faisceaux tendineux, étant cylindriques et parallèles, laissent entre eux des espaces qui, dans les coupes transversales, doivent nécessairement donner des figures étoilées. En faisant varier le point, on voit que le corps de la prétendue cellule plasmatique se continue sous la forme d'un cordon dans toute l'épaisseur de la préparation et que ses prolongements latéraux correspondent non pas à des canaux transversaux, mais à de véritables cloisons qui se poursuivent dans toute l'épaisseur de la coupe. De plus, lorsque les bords d'un tendon ont été renversés en dehors par la pression de la lamelle, les figures étoilées de la surface de section apparaissent nettement comme la terminaison des traînées de cellules qui, sur la partie renversée, se voient suivant leur longueur.



Fig. 134. — Tendon d'un jeune rat. Acide osmique. Picrocarminate. Gomme. Alcool. Coupe transversale; *c*, cellule; *f*, faisceaux. — 350 diam.

Une autre méthode encore plus démonstrative consiste à plonger un tendon de la queue d'une souris dans l'acide osmique à 1 pour 100 pendant vingt-

quatre heures, puis à le mettre tout entier, après l'avoir lavé, pendant vingt-quatre heures dans le picrocarminate ; ensuite il est lavé de nouveau et placé sur un morceau de moelle de sureau avec de la gomme, et le tout est mis dans l'alcool.

Lorsque le durcissement est suffisant, on fait, avec un rasoir, des coupes transversales qui, après un séjour convenable dans l'eau, sont montées dans la glycérine. Ces coupes présentent les figures étoilées qui nous sont déjà connues et de plus, dans l'intérieur de chacune des étoiles on voit un corpuscule anguleux.

Les coupes transversales faites en suivant les méthodes que nous venons d'indiquer permettent aussi de se rendre compte de la structure des faisceaux conjonctifs. On y distingue l'enveloppe, les lames qu'elle envoie dans leur intérieur et les fibres qui partent de ces lames. Nous avons parlé longuement (p. 276) de cette enveloppe et de ses dépendances à propos des faisceaux du tissu conjonctif diffus, nous avons insisté sur la coloration rouge que lui donne le carmin.

Les faisceaux du tissu tendineux diffèrent de ceux du tissu conjonctif diffus en ce qu'ils ont tous la même direction ; ils sont tous disposés suivant l'axe du tendon. A la surface de celui-ci, il existe une enveloppe commune de tissu conjonctif sur laquelle repose une couche endothéliale.

Dans les coupes transversales comprenant tout le tendon, il est possible de distinguer cette couche. Pour acquérir une notion plus exacte de sa disposition, il est nécessaire d'avoir recours à l'imprégnation d'argent. Des petits tendons extraits de la queue d'un rat ou d'une souris, alors que les tissus sont tout à fait frais, sont plongés dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Lorsque l'imprégnation est produite, ils sont lavés et montés en préparation dans de la glycérine. En certains points de leur surface, se montre un revêtement endothélial continu (*A*, fig. 155), et au-dessous de celui-ci, si l'imprégnation a été un peu forte, il se trouve des figures étoilées ménagées en clair (*B*, fig. 155), disposées le plus souvent en séries linéaires sur un fond coloré en brun plus ou moins intense par le dépôt d'argent. Quand on rapproche l'objectif de manière à examiner l'intérieur du tendon, on voit, les traînées cellulaires, disposées entre les faisceaux, interrompues par des stries transversales noires qui correspondent aux lignes intercellulaires (*C*, fig. 155).

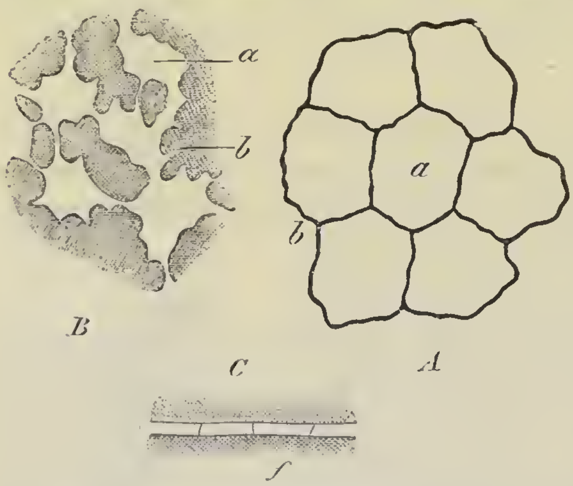


Fig. 155. — Tendon de la queue d'un jeune rat. Imprégnation par le nitrate d'argent à 1 pour 500. — A, épithélium de la surface, formé de cellules *a*, limitées par le dépôt d'argent *b*. — B, couche de tissu conjonctif sous-épithélial, formée par des cellules *a* et une substance fondamentale *b*. — C, traînée cellulaire vue de profil, disposée entre deux faisceaux *f*, et dont les cellules sont séparées les unes des autres par des lignes formées par le dépôt d'argent.

Les faisceaux des tendons sont composés de fibrilles comme ceux du tissu conjonctif diffus. Pour isoler ces fibrilles, il faut placer les tendons pendant un jour dans l'acide osmique à 1 pour 100 ou dans une solution concentrée d'acide picrique et les dissocier dans l'eau à l'aide des aiguilles. Elles sont très souples et d'une finesse extrême. Quand elles sont contournées par le fait de la préparation et qu'elles forment des anses dont la convexité regarde l'œil de l'observateur, on peut, avec un objectif à grand angle d'ouverture, apercevoir leur coupe optique; elle est circulaire, ce qui montre, ainsi qu'il a été dit à propos du tissu conjonctif diffus (voy. p. 277) que ces fibrilles sont cylindriques.

Les fibres élastiques des tendons sont mises en évidence par l'ébullition prolongée. Lorsqu'un tendon a été soumis à ce traitement, il devient transparent et friable. Examiné ensuite soit dans l'eau, soit dans la solution d'iode, les faisceaux et les fibrilles s'y montrent transformés en une substance claire parsemée de granulations, et il y apparait des fibres élastiques extrêmement fines. Elles sont réunies entre elles par des anastomoses obliques et constituent un réseau tant à la surface que dans l'intérieur du tendon. Elles ne se colorent pas par le carmin et sont absolument distinctes des fibres qui prennent naissance sur les cloisons de la gaine des faisceaux, lesquelles se colorent en rouge dans ce réactif.

Expansions tendineuses. — Les expansions tendineuses, c'est-à-dire les prolongements aplatis des tendons, qui vont s'étaler sur les muscles pour augmenter leur surface d'insertion, ont une structure analogue à celle des tendons proprement dits.

Parmi ces membranes, il en est une, l'aponévrose d'enveloppe de la cuisse de la grenouille, qui possède des cellules dont la forme spéciale nous fait bien comprendre la manière dont se produisent les crêtes d'empreinte des cellules tendineuses.

Pour obtenir des préparations de cette membrane, on circonscrit par des incisions peu profondes faites avec un scalpel bien tranchant une portion de l'aponévrose d'enveloppe au niveau du triceps; on l'enlève avec une pince, et on la place sur une lame de verre dans une goutte de picrocarminate où elle est laissée pendant une demi-heure. Après cela, elle est portée dans l'eau. Lorsqu'elle a perdu sa teinte jaune et qu'elle est franchement rose, elle est étendue sur une lame de verre. L'extension doit être complète. Pour la réussir il faut faire usage du procédé de la demi-dessiccation (voy. p. 61). Puis rapidement on recouvre d'une lamelle dont les quatre coins sont fixés avec de la paraffine; on ajoute de l'eau, puis une goutte d'acide acétique. Quand ce réactif a rendu la membrane transparente, on fait passer de la glycérine sous la lamelle.

On voit alors dans la membrane, à un grossissement de 100 diamètres, des lignes fines, d'une couleur rose, qui limitent en s'entre-croisant à angle droit des carrés clairs, à peu près d'égales dimensions, semblables à ceux d'un damier. Une observation un peu attentive apprend bien vite que cette image est produite par deux plans de faisceaux connectifs qui s'entre-croisent

à angle droit, ou mieux par deux plans aponévrotiques superposés, les faisceaux de l'un ayant une direction perpendiculaire à ceux de l'autre.

A la surface de ces divers faisceaux, sont disposées des cellules dont les noyaux seuls sont bien nets. C'est sur ces noyaux que doit se porter l'attention. Compris entre les deux couches de la membrane aponévrotique et entre les faisceaux qui les composent, ils se montrent avec des formes variées et singulières (fig. 156). Les uns sont plats et elliptiques; ce sont ceux qui se présentent de face. D'autres ont la forme d'un bâtonnet; ce sont ceux qui sont vus de profil dans un espace compris entre deux faisceaux voisins de la même couche. Certains paraissent comme une croix latine dont la branche transversale serait sur un plan différent de la longitudinale. Quelques-uns sont sem-

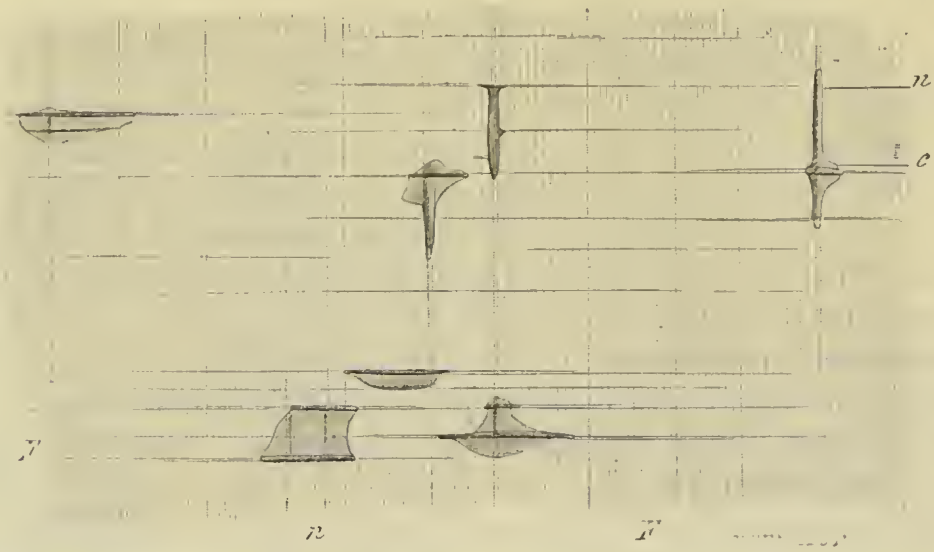


Fig. 156. — Aponévrose fémorale de la grenouille, colorée au picrocarminate et examinée tendue dans la glycérine additionnée d'acide formique. — *F*, faisceaux connectifs; *n*, noyaux; *c*, crêtes d'empreinte. — 500 diam.

blables à une croix russe, les deux branches transversales étant à un plan différent de la longitudinale. Il y en a qui sont en demi-lune avec un bord rectiligne épais et foncé; sur cette demi-lune, on observe une ou deux crêtes transversales également foncées. Ces diverses figures peuvent être expliquées facilement. En effet, si l'on admet que les noyaux prennent l'empreinte des faisceaux sur lesquels ils sont appliqués, on comprendra, avec les notions les plus élémentaires de la géométrie descriptive, toutes les formes que nous venons d'indiquer. Pour le faire bien saisir, nous avons l'habitude de les montrer d'après le schéma suivant : entre les doigts des deux mains appliquées les uns sur les autres par leurs faces palmaires et croisés perpendiculairement, on presse de petites masses de cire à modeler. Aplaties par la pression, ces masses envoient entre les doigts des expansions en forme de crêtes, et quand on les examine après leur avoir fait subir cette manipulation, elles montrent quelques-unes des formes des noyaux de l'aponévrose fémorale de la grenouille. On comprendra dès lors pourquoi nous appelons crêtes d'empreinte les saillies des noyaux dont nous venons de parler et pourquoi nous avons appliqué le même nom aux crêtes des séries cellulaires

des tendons, qui correspondent à ce que F. Boll a appelé stries élastiques.

On pourrait objecter à l'interprétation que nous venons de donner des crêtes d'empreinte, que ces crêtes sont un produit artificiel. Les faisceaux conjonctifs gonflés par l'acide acétique auraient pu comprimer les noyaux qui leur sont interposés de manière à leur faire prendre ces formes bizarres. Pour répondre à cette objection, il faut fixer les éléments cellulaires avant de les colorer et de les examiner. Voici la méthode que nous avons employée : Chez une grenouille nous avons séparé la cuisse, dépouillée de la peau, en y laissant une partie du bassin et l'extrémité supérieure du tibia, et nou l'avons immergée dans une solution d'acide osmique à 1 pour 200. Au bou de deux heures, l'aponévrose fémorale a été détachée dans de l'eau distillée, colorée par le picrocarminate, placée sur une lame de verre et montée dans la glycérine (il n'est pas nécessaire de la tendre par le procédé indiqué plus haut, parce que l'action de l'acide osmique, en fixant tous les éléments dans leur forme, a donné à la membrane une certaine rigidité).

Après l'action de ces différents réactifs, on reconnaît tous les détails de structure des noyaux préparés par la méthode indiquée précédemment. Comme l'acide osmique est un excellent fixateur des éléments délicats, les objections que l'on aurait pu faire aux résultats obtenus au moyen de l'acide acétique tombent d'elles-mêmes, et il faut admettre que les noyaux ont bien réellement les formes que nous avons décrites.

Les mêmes détails peuvent encore être observés sur l'aponévrose fémorale placée à l'état frais dans la solution de purpurine (p. 95), et montée dans la glycérine après un séjour de vingt-quatre à quarante-huit heures dans la matière colorante. Soumise à cette méthode, les noyaux présentent encore des crêtes d'empreinte, et comme nous n'avons fait intervenir aucun acide susceptible de gonfler les faisceaux et que de plus la solution de purpurine que nous employons conserve bien la forme des noyaux tout en les colorant, nous sommes encore à l'abri de toute cause d'erreur.

Tendon d'Achille de la grenouille. — A côté des tendons ordinaires et des expansions tendineuses, il convient de placer un organe intéressant, surtout au point de vue de la forme des cellules, le nodule sésamoïde du tendon d'Achille de la grenouille.

Lorsque chez la grenouille on a dégagé le tendon d'Achille de sa gaine, on observe à sa face profonde un nodule dur, cartilaginiforme, du volume d'une lentille. Dans ce nodule pris entre deux lames de moelle de sureau, on fait avec un rasoir sec une coupe que l'on agite dans la solution d'iode (p. 94). Les cellules qui y sont contenues se détachent alors et flottent dans le liquide. Elles apparaissent sous la forme de blocs arrondis ou irréguliers, transparents comme du verre, à peine teintés en jaune par l'iode, possédant un beau noyau ovalaire, rarement situé au centre de la cellule, et à côté de celui-ci un petit corps granuleux se colorant en jaune brun par l'iode. On ne trouve dans ces cellules ni matière glycogène, ni gouttes de graisse.

Pour tout histologiste ayant traité par la solution d'iode une coupe de

cartilage hyalin, fibreux ou élastique, il paraîtra certain, d'après la description qui précède, que les cellules du nodule sésamoïde ne sont pas semblables aux cellules du cartilage. Celles-ci se colorent vivement par l'iode, contiennent souvent des gouttes de graisse, sont granuleuses et se rétractent fortement sur le noyau et les gouttes de graisse de manière à confondre le tout dans une masse informe.

Les cellules du nodule sésamoïde au contraire ne reviennent pas sur elles-mêmes, et, comme nous venons de le voir, elles se colorent faiblement par l'iode et ne contiennent pas de graisse.

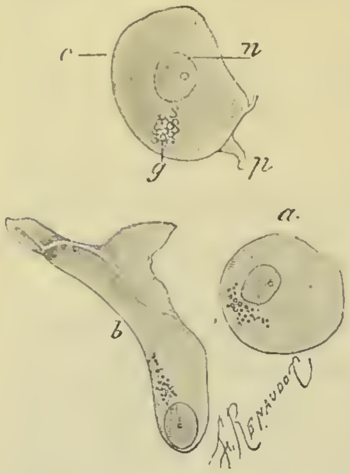


Fig. 157. — Cellules du nodule sésamoïde du tendon d'Achille de la grenouille, isolées dans la solution d'iode. — *a*. sphérique; *b*, irrégulière, avec des saillies et des dépressions correspondant à l'empreinte des faisceaux connectifs; *c*. cellule avec un prolongement *p*; *n*, noyau; *g*. corps granuleux situé au voisinage du noyau. — 450 diam.

Il importe d'étudier ces cellules *in situ*, pour reconnaître leurs rapports avec les faisceaux conjonctifs du tendon. Dans des coupes pratiquées après durcissement dans l'alcool ou dans l'acide picrique, on constate que les faisceaux tendineux sont écartés les uns des autres de manière à laisser entre eux des espaces dans lesquelles les cellules sont groupées en nombre plus ou moins considérable.

Après avoir traité la préparation par le pinceau, on reconnaît dans ces espaces un réticulum fibrillaire dont les mailles étaient occupées par des cellules[1].

Tendons des oiseaux. — Un tendon cartilaginiforme de la patte du poulet, du dindon ou de tout autre oiseau, possède dans sa partie chondroïde des faisceaux tendineux parallèles, comme un tendon ordinaire, et des séries de cellules qui diffèrent des cellules tendineuses en ce qu'au lieu d'être plates elles sont cylindriques ou polyédriques. De plus, elles sont séparées les unes des autres par une substance intercellulaire disposée en colonnes, homogène, transparente et qui se colore légèrement par le carmin; ce dernier caractère la distingue de la substance cartilagineuse. Dans les coupes transversales, traitées par le carmin d'abord et ensuite par l'acide acétique, ces cellules se montrent comme des cercles clairs avec un noyau central fortement coloré, tandis que les faisceaux tendineux sont représentés par des cercles incolores plongés dans une substance colorée en rouge.

Lorsque la calcification du tendon chondroïde s'est produite partiellement, des coupes transversales faites après décalcification par l'acide picrique, colorées au carmin et traitées par l'acide acétique, montrent en quelques points les caractères précédemment décrits; sur d'autres, au contraire, les

1. Voyez, à propos de ces cellules, *Boll*, Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Gewebe (*Arch. für microsc. Anat.*, 1871, p. 301), et *Renaut*, Recherches sur la transformation vésiculaire des éléments des tendons (*Arch. de physiol.*, 1872, p. 171, et *Arch. de physiol.*, 1874, p. 194).

cercles qui représentent les faisceaux tendineux sont colorés comme la substance qui les sépare.

Enfin, dans les tendons complètement ossifiés, c'est-à-dire ceux qui, usés à la meule et montés dans le baume de Canada, fournissent des préparations semblables à celles que donne du tissu osseux, on peut retrouver encore la structure du tendon. Pour cela il faut décalcifier dans une solution concentrée d'acide picrique, faire des coupes transversales que l'on colore au carmin, ou bien décalcifier dans une solution d'acide chromique à 2 ou 3 pour 1000 et colorer les coupes dans une solution de purpurine. On y observe des canaux de Havers coupés en travers, et autour de chacun d'eux, si la préparation a été traitée par le carmin, une zone plus colorée que le reste de la préparation, rappelant les systèmes de lamelles qui, dans les os longs, entourent les canaux vasculaires.

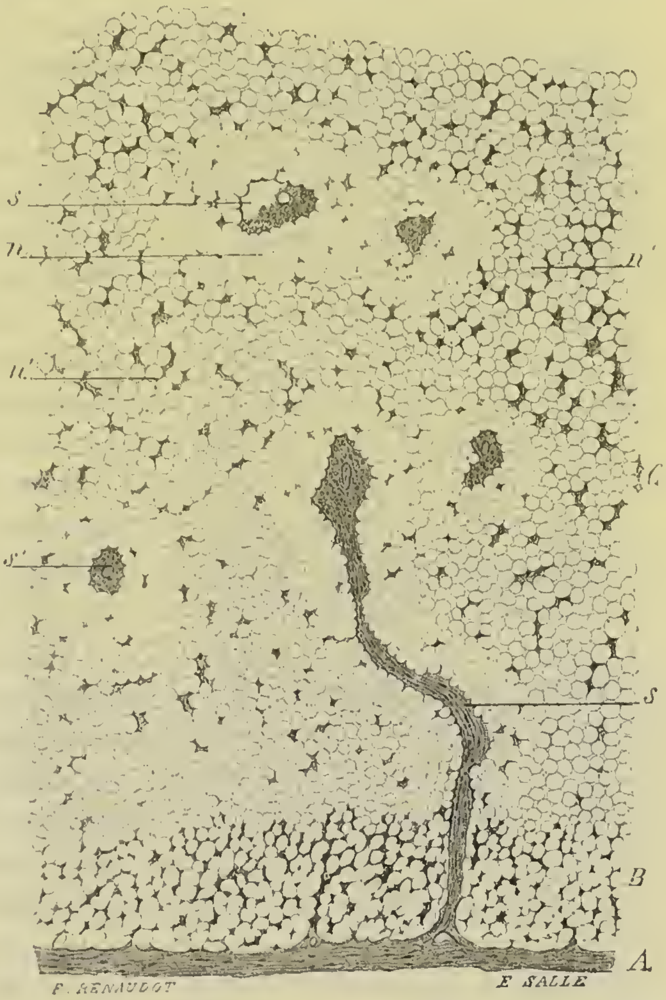


Fig. 158. — Tendon fléchisseur des doigts du poulet ayant subi l'ossification. Décalcification par l'acide chromique. Coupe transversale. Coloration à la purpurine. Examen dans la glycérine. — *A*, couche connective de la surface du tendon; *B*, couche non ossifiée; *C*, couche ossifiée; *s*, canal de Havers à direction transversale; *s'*, canaux de Havers à direction longitudinale; *n*, coupe transversale à des faisceaux tendineux; *n'*, corpuscules osseux. — 200 d.

Une étude plus attentive, à un grossissement de 150 à 400 diamètres, fera reconnaître qu'il n'y a pas là de véritables lamelles osseuses, et même lorsque l'ossification est ancienne, la substance osseuse paraît constituée autour des vaisseaux, comme dans le reste du tendon, par des faisceaux tendineux qui, dans les coupes transversales, forment autant de cercles. Seulement, en ces points, ils sont plus petits et moins distincts, bien qu'il soit encore très facile d'en apprécier les limites.

Ce fait a déjà été très bien décrit et figuré par Lieberkühn [1].

Il est clair que les tendons ossifiés des oiseaux sont formés de tissu osseux véritable, et que la substance osseuse fondamentale y est représentée par les faisceaux tendineux transformés, mais reconnaissables encore. En un

1. *Lieberkühn*, Ueber die Ossification der Sehnengewebes, *Arch. Reichert et Du Bois-Reymond*, 1860, p. 824.

mot, les tendons ossifiés des oiseaux sont presque entièrement constitués par des fibres de Sharpey (voy. p. 256).

L'étude de ces tendons à la lumière polarisée achève de le démontrer. Les coupes longitudinales faites à la meule et montées dans le baume du Canada sont fortement biréfringentes, tandis que des coupes transversales préparées de la même façon ne rétablissent pas la lumière lorsque les deux prismes de Nicol sont croisés. Autour des canaux vasculaires il ne se produit alors aucune trace de la croix lumineuse qui se montre d'une manière si nette dans les coupes transversales des os longs (voy. fig. 115, p. 262).

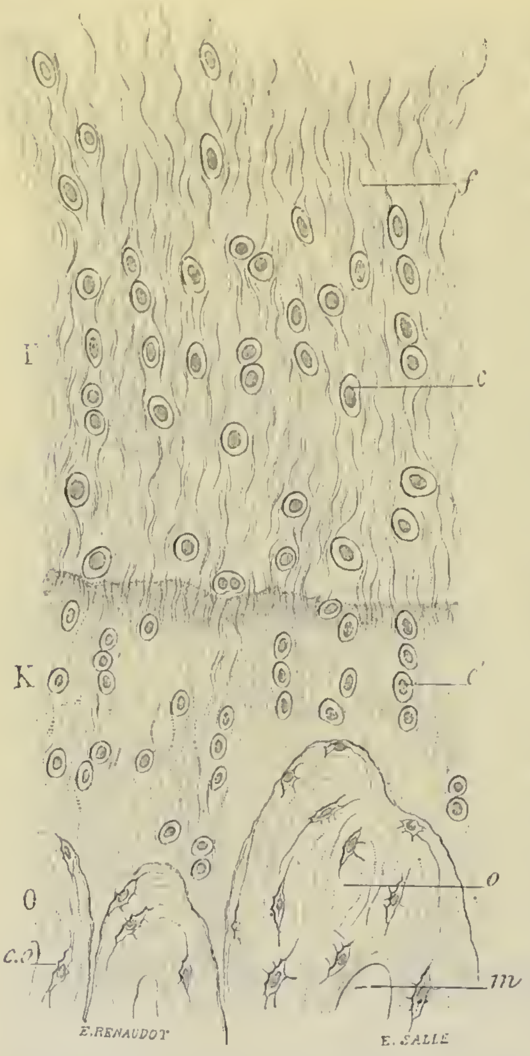


Fig. 159. — Coupe longitudinale du ligament rond et de la tête du fémur du chat adulte. Décalcification dans une solution concentrée d'acide picrique. Coloration avec la purpurine. F, cartilage fibreux; K, cartilage fibreux calcifié; *o*, tissu osseux; *m*, canal vasculaire; *f*, substance fondamentale fibreuse du ligament; *c*, capsule de cartilage; *c'*, capsule cartilagineuse calcifiée; *co*, corpuscules osseux. — 200. diam.

Il reste à dire qu'en dehors des parties chondroïdes ou ossifiées les tendons des oiseaux possèdent la structure des tendons des mammifères. Les cellules plates y sont très grandes, très nombreuses et ont des prolongements effilés qui s'étendent au loin sur les faisceaux tendineux qu'elles recouvrent.

Tendons de la taupe. — A côté des tendons des oiseaux, se placent les tendons de la queue des taupes, ou du moins de quelques-uns de ces animaux dont nous n'avons pas pu déterminer l'âge. Entre les faisceaux tendineux, il existe des cellules cylindriques, placées bout à bout et soudées les unes avec les autres, de manière à former des séries que l'on peut facilement isoler par la dissociation après l'action de l'acide picrique.

Ces séries de cellules s'étendent dans toute la longueur du tendon, ou bien elles s'arrêtent et se terminent par des extrémités effilées dans lesquelles on ne trouve plus trace d'éléments cellulaires. Quelquefois une chaîne est formée de quelques cellules seulement, et chacune de ses extrémités se termine par un long filament coloré en rouge, si la préparation a été soumise à l'action du carmin.

Les cellules des tendons de la taupe, figurées par Ciaccio[1], sont semblables aux cellules des tendons chondroïdes des oiseaux. Il s'agit là d'une forme de transition entre les tendons et les ligaments constitués par des faisceaux

1. Ciaccio, *Nuove ricerche sull' interna tessitura dei tendini*, Bologna, 1872.

tendineux entre lesquels sont disposées des capsules de cartilage tellement nettes qu'on ne peut les mettre en doute. Le ligament rond de l'articulation coxo-fémorale en fournit un exemple remarquable (fig. 159).

Fibro-cartilage tendineux. — Les tendons et les ligaments, au voisinage de leur insertion aux os ou aux cartilages, présentent entre leurs fibres, non pas des cellules libres comme celles que l'on trouve dans le reste de leur étendue, mais des cellules renfermées dans des capsules de cartilage. Pour bien voir cette disposition, le ligament rond de l'articulation coxo-fémorale ou les ligaments croisés de l'articulation du genou sont de bons objets d'étude. Le meilleure mode de préparation consiste, s'il s'agit du ligament rond, à diviser par un trait de scie une petite portion de la tête du fémur correspondant à l'insertion du ligament. Si le fragment osseux est très petit, il suffit d'un séjour de deux ou trois jours dans une solution d'acide picrique concentrée et abondante pour produire la décalcification. Des coupes parallèles à l'axe du ligament, placées d'abord dans l'eau jusqu'à décoloration, puis laissées pendant vingt-quatre heures dans une solution de purpurine, sont enfin lavées et montées en préparation persistante dans de la glycérine. Comme dans ces préparations tous les noyaux sont très nettement colorés, il est facile de voir qu'il n'y a pas, dans ce tissu ligamenteux ou tendineux, au voisinage de l'os, d'autres éléments cellulaires que ceux contenus dans des capsules de cartilage.

De la description de toutes ces variétés de tissu tendineux et ligamenteux, il résulte que, si les faisceaux conjonctifs y sont toujours semblables dans leur forme, même au milieu de l'os vrai des tendons ossifiés des oiseaux, il n'en est pas de même des éléments cellulaires. Ces éléments sont en effet différents suivant l'âge des animaux et suivant les tendons que l'on examine. Ils peuvent être des cellules embryonnaires, c'est-à-dire des cellules globuleuses constituées par une masse de protoplasma et un noyau. Ils peuvent être des cellules plates appliquées à la surface des faisceaux connectifs, comme dans le tissu conjonctif diffus. Ils peuvent être des cellules spéciales plus ou moins voisines de celles du cartilage, comme dans le nodule sésamoïde du tendon d'Achille de la grenouille, les tendons chondroïdes des oiseaux et les tendons de la queue des taupes. Ils peuvent être enfin des cellules de cartilage encapsulées ou de véritables corpuscules osseux.

L'étude du développement des tendons nous rendra compte de ces différences.

MEMBRANES

Parmi les membranes de l'économie, les unes, en petit nombre ou de faible étendue, sont formées d'une substance anhiste (membrane de Descemet, capsule du cristallin, sarcolemme, membrane de Schwann) ; les autres sont presque entièrement constituées par du tissu conjonctif. Ces dernières seules nous occuperont ici.

Il convient, en commençant ce chapitre, de rappeler le chef-d'œuvre de Bichat, son Traité des membranes, où se trouve à un haut degré la largeur de vues qui a fondé la réputation de cet illustre anatomiste. Nous ne saurions accepter aujourd'hui sa classification en membranes fibreuses, séreuses ou celluleuses et muqueuses, parce que, au point de vue de l'histologie, les membranes fibreuses se confondent avec les tendons et que les membranes muqueuses forment des organes complexes et variés qui exigent une description spéciale pour chacune d'elles.

Dans ce chapitre, il sera seulement question des membranes séreuses. Disons tout d'abord qu'au point de vue de la conception générale, il y a peu de chose à changer aujourd'hui à ce que Bichat en a dit à leur sujet. Voici quelques citations qui certainement surprendront beaucoup d'histologistes. Les membranes séreuses sont « toutes formées de tissu cellulaire » ; « le système lymphatique entre essentiellement dans leur formation ». « Les absorbants s'ouvrent par une infinité d'orifices sur les membranes séreuses. » « Il faut regarder les membranes séreuses... comme de grands réservoirs intermédiaires aux systèmes exhalant et absorbant, où la lymphe, en sortant de l'un, séjourne quelque temps avant d'entrer dans l'autre, où elle subit, sans doute, diverses préparations[1], » etc.

La science a fait justice des vaisseaux exhalants, mais pour les absorbants ce qu'a dit Bichat reste rigoureusement vrai. Il affirme qu'il y a sur les membranes séreuses une infinité d'ouvertures qui leur correspondent. Certainement, il n'avait pas vu ces ouvertures et il n'avait aucune raison anatomique de les admettre; il les a devinées, et ce qu'il en a dit se trouve aujourd'hui justifié, à tel point que cela pourrait servir de conclusion à un travail moderne sur les vaisseaux lymphatiques.

Nous allons nous occuper des membranes séreuses, et nous comprendrons dans leur description le centre phrénique tout entier.

Membranes séreuses. — Nous choisirons comme type de séreuse le mésentère, et nous prendrons comme objet d'étude le mésentère des animaux qui servent habituellement à nos recherches : le chien, le lapin, le cochon d'Inde, le rat. Ce que nous dirons du mésentère de ces mammifères s'appliquerait fort bien au mésentère de l'homme. Nous verrons que cette étude soulève une série de questions, et que certaines d'entre elles trouvent leur solution par l'étude du mésentère de la grenouille.

Mésentère du lapin. — Occupons-nous d'abord du mésentère du lapin. Chez un animal fraîchement tué, par hémorrhagie, par exemple, la cavité abdominale est ouverte et une anse d'intestin attirée au dehors. Cette anse, sous-tendu par le mésentère figure un arc dans lequel les vaisseaux et les nerfs forment comme des rayons qui vont rejoindre l'arc d'intestin. Une portion de la membrane comprise entre deux rayons vasculaires est enlevée avec des ciseaux, étendue sur une lame de verre et recouverte d'une lamelle. On y voit des filaments disposés d'une façon variable et embrouillée, que l'on reconnaît comme des faisceaux de tissu conjonctif; des fibres élastiques, les unes

1. *Bichat*, Traité des membranes, 1816, p. 113, 114, 116, 117.

droites et tendues, les autres en tire-bouchon ; enfin quelques corps indistincts qui sont des noyaux ou des cellules.

Cet examen superficiel suffit pour montrer que le mésentère est formé de tissu conjonctif, mais nous allons voir qu'en faisant varier les modes de préparation et en étudiant cette membrane à l'aide de divers procédés, elle offre à considérer bien plus de détails et un arrangement beaucoup plus régulier qu'on ne pourrait le supposer au premier abord.

Si le lambeau de mésentère, au lieu d'être simplement déposé sur la lame de verre, est tendu avant d'être examiné, l'aspect de la préparation change complètement.

Pour l'étendre, deux procédés peuvent être employés. Le premier consiste à en prendre un fragment plus grand que la lamelle à recouvrir. Lorqu'il est étalé sur la lame de verre, imbibé du liquide additionnel et recouvert de la lamelle, ses bords dépassent de tous les côtés. La préparation est bordée à la paraffine, et lorsque cette dernière est refroidie il se trouve fixé. Alors, avec un scalpel ou une aiguille, la paraffine est enlevée sur un des bords, et la membrane, saisie une avec pince par la partie qui dépasse la lamelle, est tirée de ce côté ; maintenue sur les autres côtés par les bordures de paraffine, elle est tendue dans un sens, et une nouvelle couche de paraffine appliquée sur ce bord maintient l'extension. En opérant de la même façon sur les autres côtés de la lamelle, on arrive à tendre exactement le mésentère dans tous les sens.

Un second procédé pour obtenir cette extension consiste à abandonner le fragment de mésentère à lui-même sur la lame de verre, après l'y avoir étalé. Le liquide s'évapore, et les bords, qui sèchent plus rapidement que la partie centrale, contractent une certaine adhérence avec la lame de verre. Il est facile, en tirant sur l'un de ces bords, simplement avec les doigts, d'étendre le tissu dans ce sens, grâce à la résistance à la traction qu'offrent les autres bords ; les doigts appuyés sur la partie tendue la dessèchent complètement et la font adhérer. En opérant ainsi successivement sur les quatre bords de la membrane, on arrive à la tendre fort bien, à mesure qu'elle continue à sécher. Pour éviter la dessiccation complète qui l'empêcherait d'obéir à la traction, il convient de la maintenir légèrement humide avec l'haleine. Une goutte de picrocarminate est alors déposée au centre du fragment tendu, de façon qu'elle n'arrive pas jusqu'aux bords (autrement ceux-ci cesseraient d'adhérer au verre et la rétraction se produirait) ; puis la préparation recouverte d'une lamelle est bordée à la paraffine. Les parties du mésentère qui dépassent doivent être coupées avec un scalpel, mais seulement lorsque la paraffine est refroidie et qu'elle maintient l'extension.

Dans le mésentère ainsi tendu, les faisceaux de tissu conjonctif sont rectilignes et traversent le champ du microscope dans différentes directions. Des fibres élastiques, fines et délicates, qui s'anastomosent fréquemment les unes avec les autres, forment un réticulum entre ces faisceaux. Enfin, outre les fibres élastiques et les faisceaux, la préparation offre à considérer des noyaux plats, circulaires ou elliptiques, qui se présentent toujours de face et qui

n'apparaissent pas tous avec la même netteté pour la même position de l'objectif, si l'on fait l'examen avec un très fort grossisssment; tandis que les uns se distinguent nettement pour une position donnée, les autres sont confus, et réciproquement.

Il importe de savoir ce que sont ces noyaux. Dans un mésentère de lapin imprégné avec du nitrate d'argent et coloré ensuite au picrocarminate, il est aisé de reconnaître que la plupart appartiennent aux cellules endothéliales qui recouvrent chacune des faces de la membrane et qui sont limitées par le dépôt d'argent. Mais tous les noyaux que l'on observe ne peuvent pas être considérés comme appartenant à des cellules endothéliales de la surface. Quelques-uns d'entre eux se distinguent des noyaux endothéliaux par leur situation, leurs rapports, et parce qu'ils sont entourés d'une zone granuleuse dont les contours sont vagues et irréguliers. Chacun de ces noyaux, avec sa masse granuleuse, représente une cellule connective ordinaire ou mieux encore une de ces cellules connectives plates qui, à la surface des tendons, sont placées au-dessous du revêtement endothélial. Comme ces dernières, elles paraissent situées immédiatement sous l'endothélium, et elles ne se moulent pas sur les faisceaux.

On peut démontrer que tous ces noyaux et les cellules qui y correspondent sont situés à la surface de la membrane. Pour cela, un fragment de celle-ci est mis dans du picrocarminate pendant vingt-quatre heures, puis lavé dans l'eau avec le pinceau. Soumis alors à l'examen microscopique, il ne présente plus aucun noyau. Il a donc suffi de l'action mécanique du pinceau pour enlever tous les éléments cellulaires. Il faut conclure de là que ces éléments ne sont pas inclus dans l'épaisseur de la membrane, et que le stroma de celle-ci est composé seulement de faisceaux de tissu conjonctif, de fibres élastiques et peut être d'une substance unissante.

Ce que nous venons de dire ne s'applique qu'à la partie du mésentère qui n'est pas dans le voisinage des vaisseaux. Les portions de cette membrane qui correspondent aux rayons vasculaires contiennent des cellules appliquées à la surface des faisceaux connectifs, des cellules adipeuses et des cellules lymphatiques.

Une autre question, tout aussi intéressante, est celle-ci : Y a-t-il quelque chose entre les fibres que nous voyons dans nos préparations, ou n'y a-t-il rien? Il importe, en effet, de savoir si les cellules endothéliales reposent sur ces fibres disposées en réseaux comme sur un crible, ou s'il y a entre les deux couches endothéliales une membrane continue. Dans une préparation faite comme nous venons de le dire, on ne voit que des faisceaux conjonctifs et des fibres élastiques. S'il existe une membrane, elle est tellement mince que les réactifs colorants ne sont d'aucun secours pour la démontrer, car le rouge et le bleu d'aniline et le carmin en solution forte ne produisent entre les fibres qu'une coloration insignifiante. Pour établir l'existence de cette membrane, il faut employer le procédé suivant :

Un fragment de mésentère étendu sur une lame de verre est coloré par du carmin ammoniacal, puis lavé à l'eau et ensuite brossé avec un pinceau pour

le débarrasser de ses cellules endothéliales. Il est étalé de nouveau sur la lame de verre, tendu aussi fortement que possible par le procédé de la demi-dessiccation et arrosé avec de l'alcool absolu qui en fixe les éléments. Une goutte d'essence de girofle ajoutée ensuite éclaircit la préparation. Alors, avec un scalpel ou un rasoir à trempe dure, on y pratique quelques incisions nettes. La membrane ainsi traitée et montée dans le baume du Canada est portée sous le microscope.

En l'examinant (*i*, fig. 140), il est facile d'y reconnaître la perte de substance produite par le passage de l'instrument tranchant, sous la forme d'une bande incolore. Cette bande est limitée par deux bords nets; les faisceaux et les fibres coupés viennent aboutir à l'un de ces bords et reprennent au même niveau sur l'autre bord de la bande incolore. Entre eux, se trouve une mince membrane colorée en rose qui, étant coupée comme eux par le scalpel, apparaît nettement sur les lèvres de l'incision.

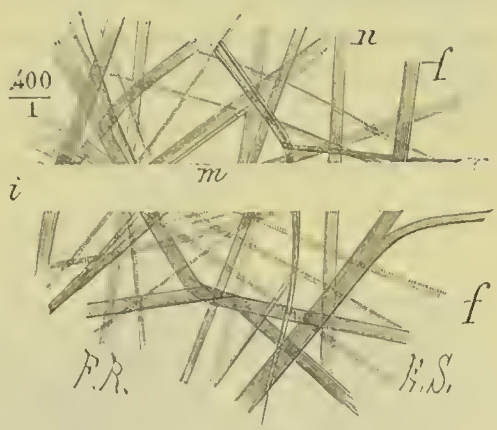


Fig. 140. — Mésentère du lapin adulte, coloré au carmin, traité au pinceau, tendu par la demi-dessiccation, déshydraté par l'alcool, éclairci par l'essence de girofle. — On y a pratiqué une incision *i*; *f*, faisceaux conjonctifs; *m*, membrane interfasciculaire. — 350 diam.

La même préparation, examinée en d'autres points, permet de suivre les faisceaux conjonctifs du mésentère dans toute l'étendue de la préparation. Ces faisceaux qui ont de 5 à 12 μ de diamètre se divisent pour donner naissance à des faisceaux plus petits; ceux-ci vont s'accoler à d'autres pour former des faisceaux plus gros. Mais jamais ces faisceaux ne perdent leur individualité; on peut les suivre sur tout leur parcours, soit qu'ils se divisent, soit qu'ils se réunissent à d'autres. Ils ne forment donc pas de véritables anastomoses, telles qu'en présentent par exemple les fibres élastiques.

Les observations que nous venons de faire sur le mésentère du lapin ne nous permettent pas de savoir s'il est constitué par un ou par plusieurs feuillets. Pour élucider cette question, nous avons eu recours à l'insufflation, méthode fort simple, employée déjà par Bichat pour l'étude de cette membrane.

Bichat[1] avait remarqué qu'à l'aide de l'insufflation il est possible de diviser le tissu du mésentère en mailles ou en cellules comme le tissu cellulaire sous-cutané, et c'est sur cette observation qu'il se fondait pour établir l'analogie de ces deux tissus. L'application de ce procédé nous a permis d'observer plusieurs faits intéressants. Voici comment il faut s'y prendre :

Un tube de verre bien effilée est introduit obliquement dans le mésentère, au voisinage des vaisseaux, chez un jeune lapin adulte. Grâce au tissu cellulo-adipeux abondant qui se trouve autour des gros vaisseaux, il est

1. *Bichat*, Anatomie générale, 1812, t. IV, p. 514.

facile de faire pénétrer la pointe de l'instrument dans l'épaisseur même de la membrane, et l'on n'est pas exposé à la voir traversée de part en part.

L'insufflation introduit dans le tissu cellulo-adipeux une certaine quantité d'air qui, à partir de là, diffuse dans les parties plus minces et divise le mésentère en deux feuilles. L'un de ces feuillets contient les vaisseaux et les ganglions lymphatiques, tandis que l'autre n'est pas vasculaire. La question est donc résolue sans l'aide du microscope : Le mésentère est formé de deux feuillets au moins. Il est même probable qu'il y en a trois, deux superficiels non vasculaires et un moyen qui contient les vaisseaux.

Pour étudier isolé un des feuillets non vasculaires du mésentère, la membrane, placée sur une lame de verre, est insufflée par le procédé que nous venons d'indiquer. Il se forme ainsi une vaste bulle dont une des parois est appliquée sur la lame tandis que l'autre est soulevée. Si cette dernière contient les vaisseaux, il suffit de l'exciser avec des ciseaux courbes; il ne reste alors qu'un feuillet dépourvu de vaisseaux sur lequel on laisse tomber une goutte de picrocarminate. Une lamelle étant alors ajoutée, on retranche tout autour d'elle les parties qui pourraient gêner l'observation. A un fort grossissement, on trouve des faisceaux du tissu conjonctif (*c*, fig. 141) moins nombreux que dans la membrane entière et un admirable réseau élastique, dont l'observation est maintenant facile, parce que la préparation est moins encombrée d'éléments.

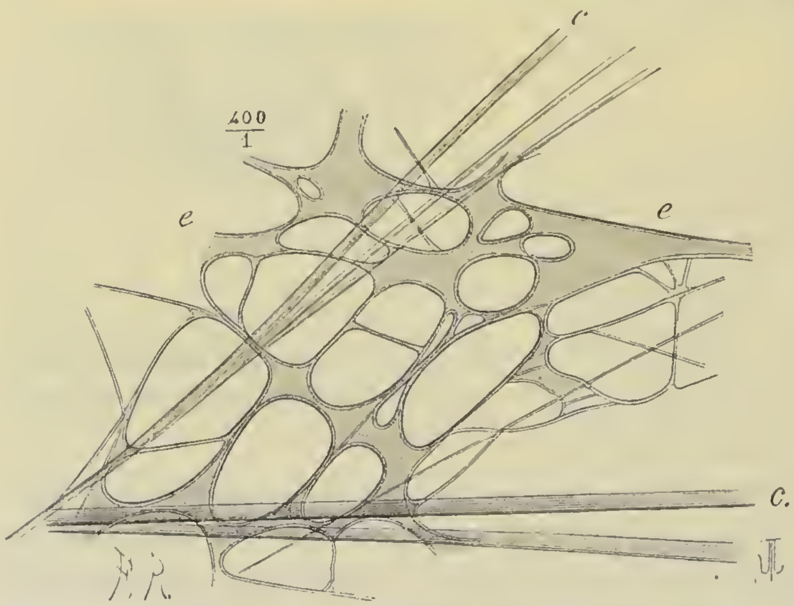


Fig. 141. — Un des feuillets du mésentère du lapin adulte, isolé par l'insufflation, coloré au picrocarminate. — *e*. réseau élastique; *c*. faisceaux de tissu conjonctif. — 300 diam.

Ce réseau est formé de fibres d'une grande minceur qui, dans les points anastomotiques, sont réunies par une lame élastique présentant des trous de dimensions variables (*e*, fig. 141). On peut donc considérer le réseau élastique du mésentère comme une membrane élastique fenêtrée dont les ouvertures seraient très inégales. De la surface du réseau qui regarde l'observateur, partent des fibres élastiques ayant une extrémité libre, et qui sont contournées en vrille parce qu'elles ne sont point tendues. Il est fort probable que ces dernières fibres unissent les deux feuillets du mésentère et qu'elles ont été déchirées par l'insufflation.

Les différents réseaux élastiques, dont la direction est parallèle à la membrane, sont donc reliés les uns aux autres et forment en réalité un réseau continu

disposé sur plusieurs plans. Il n'en est pas de même des faisceaux connectifs ; ceux-ci se présentent tous dans leur continuité, et l'on n'y observe aucune trace de rupture.

Grand épiploon. — A la suite de l'étude du mésentère du lapin se place naturellement celle d'une autre membrane séreuse, le grand épiploon, dont la structure présente des particularités intéressantes.

Le grand épiploon de l'homme ou du chien adultes, bien tendu sur une lame de verre, coloré au picrocarminate et examiné dans la glycérine, apparait non comme une membrane continue, mais comme un réseau dont les mailles sont de grandeur variée et dont les travées sont formées de faisceaux du tissu conjonctif. Ces travées ont les diamètres les plus divers. Les plus minces, constituées par un seul faisceau de tissu conjonctif, ne contiennent pas de vaisseaux sanguins. Les plus épaisses renferment du tissu cellulo-adipeux, des artères, des veines, des capillaires et des lymphatiques.

Sur toutes les travées, on observe des noyaux colorés en rouge. Les uns, situés sur les bords, ont la forme d'une lentille vue de profil ; d'autres, qui se trouvent à la surface des travées les plus larges et qui sont vus de face, ont une forme elliptique.

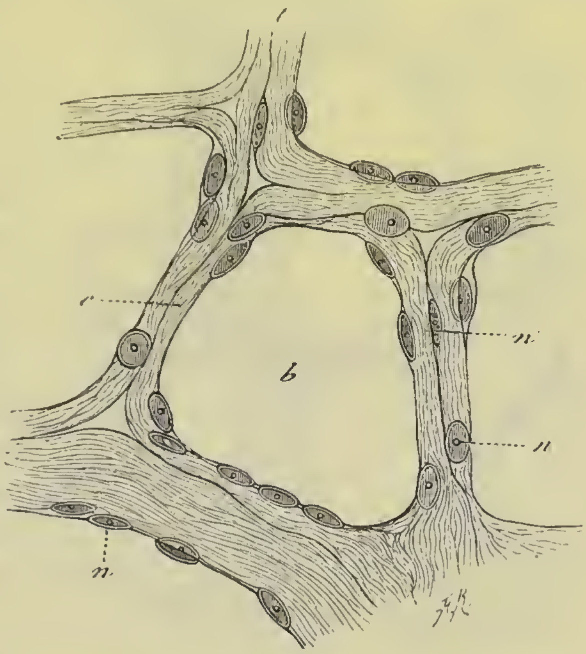


Fig. 142. — Grand épiploon du chien adulte, traité frais par le picrocarminate et la glycérine. — *b*, mailles ; *t*, travées ; *n*, noyaux endothéliaux ; *n'*, noyaux des cellules du tissu conjonctif du stroma. — 350 diam.

On observe encore dans l'épaisseur de la membrane, au point où plusieurs travées se rencontrent pour limiter autant de mailles distinctes, des noyaux semblables aux précédents, mais qui n'appartiennent pas à la surface (*n'* fig. 142). L'existence de ces noyaux établit que le grand épiploon possède, à côté des cellules endothéliales qui en recouvrent la surface, des cellules semblables à celles qui existent dans le tissu conjonctif diffus.

Il est aisé, du reste, de faire une observation exacte des cellules endothéliales du grand épiploon et de les distinguer des cellules fixes du tissu conjonctif. A cet effet, le grand épiploon est imprégné au nitrate d'argent. Pour réussir ces imprégnations, il faut choisir un chien jeune, adulte et maigre. L'animal étant encore chaud, la cavité abdominale est ouverte, en ayant soin que le sang n'y pénètre pas. Une portion du grand épiploon est détachée avec des ciseaux courbes, dédoublée soigneusement et très modérément tendue sur le bord d'une assiette. On l'arrose avec de l'eau distillée, et l'on incline ensuite l'assiette pour faire déverser l'eau. Puis elle

est remplacée par une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500, et, en imprimant des mouvements d'oscillation à l'assiette, on renouvelle incessamment les parties du liquide qui sont en contact avec la membrane. Lorsque celle-ci est devenue opaline, elle est lavée dans de l'eau distillée, puis elle est exposée à la lumière solaire, jusqu'à ce qu'elle ait pris une teinte grise. Des lambeaux en sont excisés avec des ciseaux, puis ils sont placés sur une lame de verre dans de la glycérine pour en faire des préparations persistantes, ou bien ils sont portés dans une solution de picrocarminate où ils séjournent pendant vingt-quatre heures, lavés de nouveau avec de l'eau distillée et montés aussi dans de la glycérine. Lorsque au lieu d'imprégner le grand épiploon tendu, on le fait flotter dans la solution d'argent, les préparations sont beaucoup moins régulières, mais cependant elles peuvent être encore bien démonstratives.

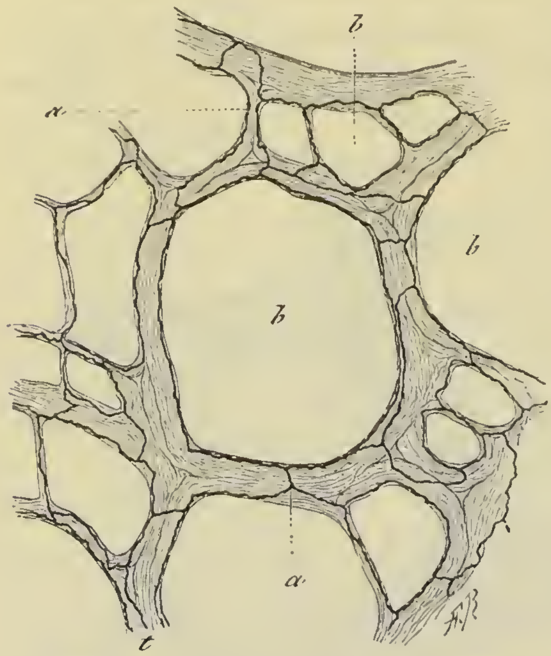


Fig. 145. — Grand épiploon du chien adulte, imprégné d'argent. — *a*, interlignes cellulaires imprégnées d'argent; *b*, mailles; *t*, travées connectives. — 300 diam.

Dans le grand épiploon imprégné d'argent, on voit les cellules endothéliales, séparées par des traits noirs, appliquées sur les travées de la membrane à la manière d'un vernis souple; chaque noyau coloré par le carmin correspond à une plaque cellulaire limitée par l'argent. Sur les plus fines travées, dont la surface entière est moindre que celle d'une cellule endothéliale ordinaire, on distingue une ligne sinueuse longitudinale marquée par le dépôt d'argent et indiquant la soudure des deux bords d'une cellule enroulée tout autour de la travée. Cette cellule forme donc à elle seule un tube dans l'intérieur duquel se trouve tendu un faisceau de tissu conjonctif.

Chez le rat et chez le cochon d'Inde, le grand épiploon est formé de travées très minces et, après avoir été imprégné d'argent, donne des préparations élégantes. Au lieu de le tendre, comme le grand épiploon du chien, au moment où on le soumet à l'action du nitrate d'argent, il vaut mieux le faire flotter dans la solution de ce sel, en imprimant au vase qui la contient des mouvements afin de renouveler les parties du liquide qui sont en rapport avec la membrane.

La réticulation du grand épiploon du lapin est peu accusée. Elle est représentée par de simples trous répartis d'une manière irrégulière et dont les dimensions sont très variables. Le grand épiploon du lapin présente encore des dispositions intéressantes. Notons d'abord qu'à sa surface se trouvent des excroissances polypiformes, qui sont formées de couches emboîtées de tissu

conjonctif et possèdent un revêtement endothélial complet, comme on peut le voir après l'imprégnation d'argent[1].

Les cellules connectives du stroma sont beaucoup plus nombreuses et mieux accusées que dans le grand épiploon du chien. Contenant un noyau aplati et ovalaire, et formées d'une lame de protoplasma granuleux, elles ont un contour irrégulier et se terminent le plus souvent par deux prolongements très allongés. Pour les observer, on peut employer diverses méthodes. Une des meilleures consiste à placer la membrane pendant vingt-quatre heures dans de l'alcool au tiers ou pendant plusieurs jours dans le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, et à la colorer ensuite avec l'hématoxyline. On voit alors, à côté des cellules colorées en bleu, les faisceaux de tissu conjonctif ayant une coloration analogue, mais beaucoup plus faible.



Fig. 144. — Grand épiploon du lapin jeune adulte. Injection de tout le système vasculaire. Coloration au picrocarminate. *l*, tache laiteuse non vasculaire; *l'*, tache laiteuse vasculaire; *a*, artère; *v*, veine. — 17 diam.

Dans ces préparations, on aperçoit des taches qui le plus souvent sont régulièrement circulaires et qui présentent une coloration plus forte que le reste de la membrane. Ces taches peuvent être observées dans le grand épiploon frais n'ayant subi aucune préparation, et comme alors elles tranchent, par une légère opacité, sur les parties les plus minces et les plus transparentes de la membrane,

1. Chez presque tous les lapins, il existe dans le grand épiploon des cysticerques isolés qui s'y sont formé des nids en refoulant la membrane et en s'en enveloppant comme d'une sorte de bourse. Il ne paraît pas y avoir de rapport entre le développement des petites polypes de tissu conjonctif et les cysticerques, car ces derniers sont enveloppés, comme on vient de le voir, dans toute la membrane, tandis que les petits polypes semblent simplement appliqués à l'une de ses faces.

je les ai désignées sous le nom de taches laiteuses. Les plus grandes de ces taches sont gaufrées, c'est-à-dire que, la membrane étant régulièrement étendue sur une lame de verre, elles y forment comme des bulles plissées et vides dont le fond serait représenté par la lame de verre sur laquelle l'épiploon est appliqué. Quelques-unes de ces taches sont vasculaires, d'autres ne renferment pas de vaisseaux (fig. 144). Plus loin, à propos du développement des vaisseaux sanguins, nous reviendrons sur les premières. Les secondes sont caractérisées par la présence d'un grand nombre de cellules lymphatiques entre les éléments de la membrane.

Les cellules endothéliales qui recouvrent les taches laiteuses sont mises en évidence par le nitrate d'argent. L'imprégnation y est irrégulière et, dans les préparations les mieux réussies, les lignes de séparation des cellules sont très sinueuses; elles sont occupées par des taches noires correspondant à des amas d'albuminate d'argent et par des cellules lymphatiques maintenues en place par l'imprégnation.

On observe, dans le grand épiploon d'un certain nombre d'animaux, des taches laiteuses ou des formations analogues. A ce point de vue, le grand épiploon du marsouin mérite une mention spéciale. Admirablement réticulé, il possède des travées d'une grande minceur; sur les plus grosses, qui contiennent des vaisseaux, sont distribués, d'une manière assez régulière, des renflements fusiformes produits par une accumulation de cellules lymphatiques au-dessous de l'endothélium et entre les faisceaux de tissu conjonctif.

Plusieurs questions importantes doivent être soulevées au sujet du grand épiploon. L'une d'elles est relative aux rapports des faisceaux avec les mailles. Rollett[1] a soutenu que chaque maille est entourée d'une sorte de couronne faite par un faisceau de tissu conjonctif enroulé et soudé à lui-même. Il n'en est pas ainsi. Mais les préparations dont nous avons parlé jusqu'ici ne peuvent servir à l'établir. Il est difficile d'y suivre la direction des faisceaux, parce que ceux-ci ont à peu près le même indice de réfraction que le milieu dans lequel ils sont plongés; le bord de la maille seul y apparaît comme une ligne très nette.

La méthode qu'il faut employer pour étudier le trajet et les rapports des faisceaux est fondée sur cette notion bien connue qu'un objet observé au microscope a des contours d'autant plus précis qu'il se trouve dans un milieu dont l'indice de réfraction s'écarte davantage du sien propre. Comme il y a entre l'indice de réfraction de ces faisceaux secs et celui de l'air une très grande différence, nous pourrons facilement, en faisant l'examen à sec et dans l'air, déterminer leurs limites et, par conséquent, suivre leur trajet. A cet effet, le grand épiploon du chien, du chat, du rat, du cochon d'Inde, etc., est placé dans de l'eau distillée. Une portion de la membrane ne contenant pas de tissu adipeux est enlevée avec des ciseaux, étendue régulièrement sur une lame de verre par le procédé de la demi-dessiccation et abandonnée ensuite à la dessiccation complète. Elle est recouverte d'une lamelle, et les bords de celle-ci sont fixés avec des bandes de papier. En examinant alors

1. Rollett, *Stricker's Handbuch*, p. 57.

à un grossissement de 150 à 200 diamètres, il sera facile de reconnaître que les faisceaux connectifs ne forment pas des anneaux complets autour de chaque maille du réseau, mais qu'ils sont simplement écartés, de telle sorte qu'une de ces mailles est bordée par deux, trois, quatre ou un plus grand nombre de faisceaux qui continuent leur parcours et vont concourir à la délimitation des mailles voisines. Ces faisceaux s'éloignent, se rapprochent et s'entrelacent comme les fils d'une dentelle (fig. 145).

Ces premières notions sur la disposition des faisceaux de tissu conjonctif autour des mailles étant établies, il importe d'étudier comment se forment ces mailles, car elles n'existent pas dans le grand épiploon des embryons et des nouveau-nés. Chez eux, cette membrane est continue, et c'est seulement après la naissance que s'y font des trous qui, s'agrandissant peu à peu, deviennent des mailles plus ou moins étendues.

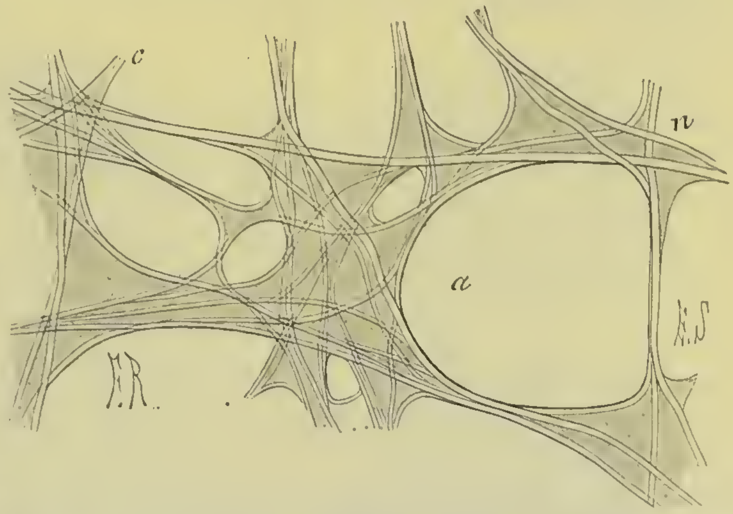


Fig. 145. — Grand épiploon du cochon d'Inde, séché et observé dans l'air. — *a*, mailles; *n*, travées; *c*, faisceaux du tissu conjonctif. — 200 diam.

Pour étudier la formation des mailles du grand épiploon, il faut choisir un chien ou un chat nouveau-né, ou mieux encore un lapin de un à trois mois. Chez ce dernier animal, les trous qui représentent les mailles sont si variés que l'on pourra suivre, dans une seule préparation et quelquefois dans le même champ du microscope, toutes les phases de la perforation.

Considérons d'abord les trous complètement formés dans une préparation bien réussie du grand épiploon du lapin, imprégné par le nitrate d'argent. A un grossissement de 350 à 400 diamètres, l'objectif étant à grand angle d'ouverture, nous pourrons distinguer successivement le pavé endothélial supérieur et le pavé endothélial inférieur, de telle sorte que les deux images ne seront pas confondues. Dès lors, il nous sera possible de bien observer comment se comportent les lignes intercellulaires au niveau de chaque trou, et par suite de savoir quelle y est la disposition des cellules endothéliales. Cette disposition n'est pas toujours la même. Trois cas principaux peuvent se présenter : 1° une ligne noire marque la circonférence du trou, et à cette ligne viennent se terminer les cellules de la face supérieure et celles de la face inférieure; 2° il n'y a pas de ligne noire sur la circonférence du trou, et une cellule en particulier, tapissant le bord de ce trou, appartient par une de ses portions à la face supérieure, et par son autre portion à la face inférieure de la membrane; 3° un trou est enveloppé par une ligne continue excentrique, limite d'une cellule endothéliale; sur l'autre face de la membrane, on voit

partir des bords du trou, plusieurs lignes divergentes qui sont la limite de plusieurs cellules. Ce sont là les trois dispositions qui représentent les types les plus saillants et les plus importants, mais il y en a une très grande variété. Parmi celles que nous avons indiquées, la dernière est la plus intéressante au point de vue auquel nous nous sommes placé. Elle prouve, en effet, que la perforation de la membrane, se poursuivant au milieu d'une plaque endothéliale, est le produit d'une action mécanique dont la cause doit être cherchée en dehors de cette membrane. C'est du moins l'hypothèse qui nous semble la plus probable.

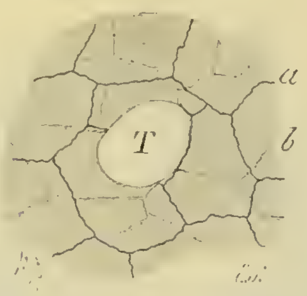


Fig. 146. — Grand épiploon du lapin adulte. — T, trou; *a*, lignes intercellulaires marqués par le dépôt d'argent à la face supérieure; *b*, lignes intercellulaires de la face inférieure. — 250 d.

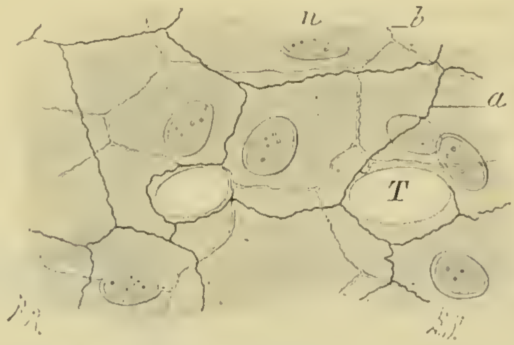


Fig. 147. — Grand épiploon du lapin adulte Imprégnation d'argent. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine — T, trou; *a*, lignes intercellulaires de la face supérieure; *b*, lignes intercellulaires de la face inférieure; *n*, noyau. — 550 diam.

Voici comment nous sommes conduit à la formuler : Parmi les nombreuses cellules lymphatiques qui vaguent dans la cavité du péritoine (et chez le lapin en particulier elles sont parfois si nombreuses que la sérosité péritonéale en est rendue lactescente) supposons-en une qui vienne se fixer entre deux cellules du revêtement endothélial du grand épiploon. Elle les écartera pour venir se mettre en rapport avec la face profonde d'une cellule de l'endothélium de la face opposée de la membrane. Poursuivant son trajet en ligne droite, elle perforera cette dernière cellule endothéliale, et, lorsqu'elle se sera complètement dégagée, elle laissera une ouverture limitée d'un côté par deux cellules du revêtement et de l'autre par une seule cellule présentant à son centre une perte de substance comme taillée à l'emporte-pièce.

La même hypothèse s'applique fort bien à la première des dispositions que j'ai indiquées. Pour la comprendre, il suffit d'admettre que la cellule lymphatique perforante, partie d'une ligne endothéliale de l'une des faces de la membrane, a gagné la face opposée au niveau de la séparation de plusieurs des cellules de cette face.

Quant à la seconde disposition, qui est de beaucoup la plus fréquente, surtout dans le grand épiploon du lapin adulte, et qui correspond au grand épiploon du chien, du rat, etc., elle ne se peut comprendre qu'en admettant un remaniement du revêtement endothélial; elle en montre du reste l'importance et l'étendue, et à ce point de vue elle ne manque pas d'intérêt. Du reste, l'étude du grand épiploon enflammé nous apprend combien ce remaniement est facile, puisque la membrane peut être à un certain moment presque

complètement dénudée et cependant se recouvrir plus tard d'une nouvelle couche endothéliale[1].

L'hypothèse que nous venons de formuler au sujet de la formation des trous du grand épiploon peut être encore étayée sur deux ordres de faits : les uns sont relatifs à la distribution de ces trous, les autres à leur mode de formation.

Ils se montrent loin des vaisseaux sanguins, là où la membrane est le plus mince et où elle est le moins largement pourvue de moyens de nutrition. Ce sont donc les points qui présentent le moins de résistance mécanique et

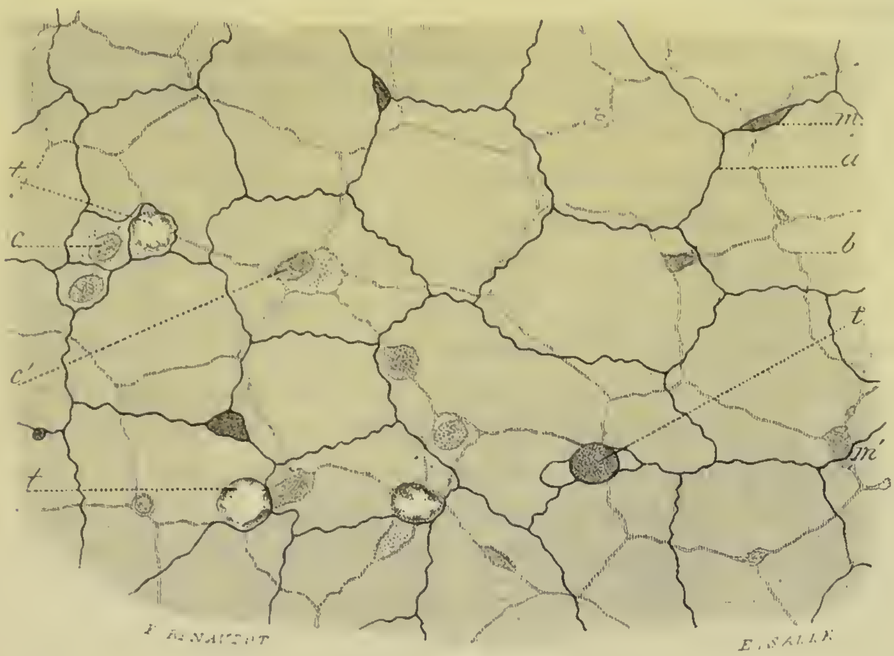


Fig. 148. — Grand épiploon d'un lapin de trois mois, imprégné sur place chez l'animal qui vient d'être sacrifié. — *t*, trous de la membrane ; *a*, lignes intercellulaires de la face supérieure ; *b*, interlignes de la face inférieure ; *m*, amas d'albuminate d'argent intercellulaires de la face supérieure ; *m'*, les mêmes de la face inférieure ; *c* et *c'*, petites cellules intercalaires.

vitale qui sont perforés, ce qui semble indiquer que dans ce phénomène la membrane a un rôle passif.

Un second fait est encore à noter. La distribution des trous est tout à fait irrégulière. Chez le lapin, les perforations grandes ou petites sont éloignées, rapprochées, ou se confondent sans qu'aucune place paraisse marquée d'avance pour chacune d'elles. Chez l'homme, le chien, le cochon d'Inde, le rat, etc., la réticulation se poursuit et n'est limitée finalement que par les faisceaux connectifs et les grosses travées vasculaires et adipeuses.

L'observation des trous en voie de formation doit être faite sur le grand épiploon d'un jeune lapin, imprégné en place avec la solution de nitrate d'argent. L'animal étant tué par hémorrhagie ou par la section du bulbe, la cavité abdominale est largement ouverte, le grand épiploon est étendu sur le paquet intestinal, et avec une pipette on l'arrose d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Lorsque l'imprégnation est produite, le grand épiploon

1. Manuel d'histologie pathologique, p. 74.

est détaché avec des ciseaux, placé dans de l'eau distillée, et des fragments en sont régulièrement étalés sur une lame de verre, pour être soumis à l'examen microscopique.

La plupart des trous sont remplis d'une masse noire provenant de ce que la sérosité albumineuse du péritoine, maintenue par capillarité dans chacun d'eux, a été d'abord coagulée par le nitrate d'argent, puis a retenu une partie du métal sous la forme d'albuminate.

D'autres trous contiennent une cellule globuleuse, semblable par son volume et sa forme à une cellule lymphatique et séparée de la circonférence du trou par un liséré inégal, noir, provenant de la fixation du nitrate d'argent par l'albumine.

En quelques points, entre deux cellules endothéliales et plus souvent au niveau de la jonction de trois de ces cellules, se trouve enclavée une cellule lymphatique limitée par une ligne circulaire d'imprégnation.

Toutes les cellules enclavées entre les cellules endothéliales ne sont pas semblables aux cellules lymphatiques. Il y en a qui ont une analogie bien plus grande avec de petites cellules endothéliales, car elles présentent des côtés rectilignes et des angles bien marqués. Il n'est pas probable qu'elles proviennent d'un produit de divisions des cellules du revêtement, parce que cette division se fait en d'autres points d'une tout autre façon (voy. p. 225). Lorsqu'elle a lieu, les deux cellules qui proviennent de la segmentation de l'élément primitif sont à peu près de la même dimension et présentent des noyaux placés en face l'un de l'autre de chaque côté d'une ligne d'imprégnation. Cette petite cellule endothéliale dérive sans doute d'une cellule migratrice qui, n'ayant pas pu poursuivre sa route dans l'épaisseur de la membrane, s'est étalée à sa surface. Du reste, il suffit d'avoir vu une cellule lymphatique de la grenouille s'aplatir sur une lame de verre, au moment où on l'examine (voy. p. 152), pour que cette interprétation paraisse naturelle.

Enfin, on observe, entre les cellules endothéliales, de petits amas noirs et des perforations complètes de la membrane d'un très petit diamètre. Les uns et les autres peuvent encore être considérés comme des traces laissées par les cellules lymphatiques au moment où elles s'attaquent à la membrane ou viennent de la traverser.

Le nombre, les dimensions et la distribution des taches et des trous du grand épiploon sont excessivement variables. Ils semblent livrés à une sorte de hasard, mais on peut cependant les expliquer en admettant que les cellules lymphatiques qui vivent à l'état de liberté dans la cavité péritonéale y possèdent les propriétés qui ont été indiquées antérieurement (p. 147). Au moyen de leurs prolongements amiboïdes, elles se fixent sur les surfaces et tendent naturellement à pénétrer dans les interstices. Elles mettent en jeu cette activité sur le grand épiploon qui, étendu librement dans la cavité péritonéale, se trouve soumis à leur action. Elles tendent incessamment à pénétrer et à s'établir entre les cellules endothéliales; elles y réussissent parfois, mais le plus souvent, après avoir écarté deux cellules voisines, elles changent de direction et laissent une empreinte qui se trouve remplie par de la sérosité. Si à ce

moment une solution d'argent est mise en rapport avec la membrane, cette empreinte sera nécessairement marquée par une tache noire. Ces taches existent seulement quand l'imprégnation a été faite sur le grand épiploon en place et non lavé. Elles ne se rencontrent pas lorsque la membrane a été détachée et lavée à l'eau distillée avant d'être soumise à l'imprégnation. Il a donc suffi d'un simple lavage pour permettre aux bords des cellules momentanément écartés de se rejoindre de nouveau.

La plupart des histologistes considèrent les petites taches interendothéliales comme des stomates préexistantes destinées à livrer passage aux cellules lymphatiques; cette hypothèse a été émise à propos d'autres membranes revêtues de cellules endothéliales (voy. *Vaisseaux capillaires*). Mais la distribution irrégulière de ces taches et leur absence, lorsque avant d'employer le nitrate d'argent on a enlevé les albuminates qui souillent les surfaces, font supposer qu'il ne s'agit pas là d'ouvertures préexistantes. La présence même de ces taches sur le grand épiploon, qui est déjà si largement perforé et où le passage des globules blancs est parfaitement inutile, apporte un nouvel argument contre l'opinion de ceux qui voudraient en faire des stomates.

Mésentère de la grenouille. — Il convient maintenant d'indiquer quelques

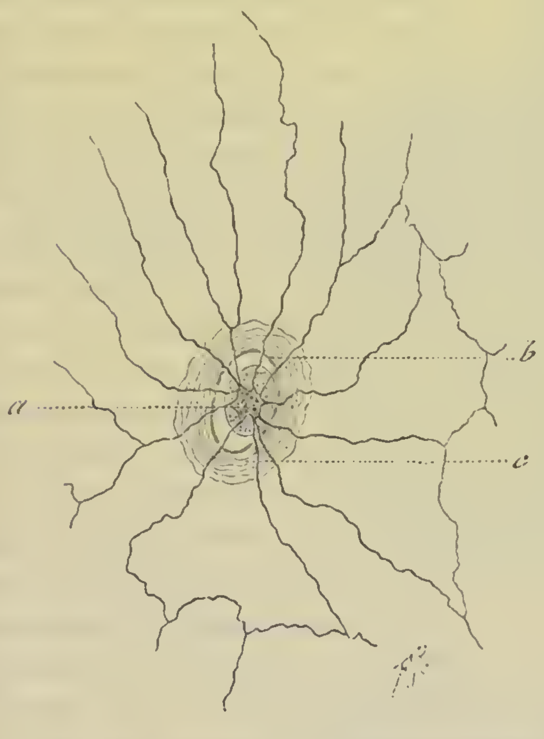


Fig. 149. — Mésentère de la grenouille imprégné au nitrate d'argent. — *b*, Trou occupé par une cellule granuleuse *a*, limité par une couronne de tissu conjonctif *c* et entouré de cellules endothéliales disposées en rayons. — 400 diam.

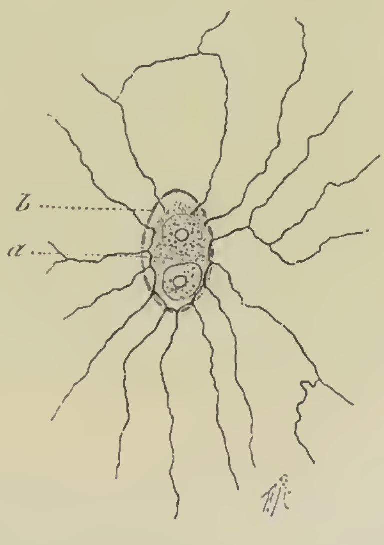


Fig. 150. — Mésentère de la grenouille, imprégné d'argent. — *b*, trou occupé par deux cellules granuleuses. — 400 diam.

détails de structure du mésentère de la grenouille, qui, à certains points de vue, peut être rapproché du grand épiploon des mammifères.

Après avoir imprégné d'argent une partie du mésentère, en conservant l'anse d'intestin à laquelle elle est attachée, on l'étale sur une lame de verre

et on le recouvre d'une lamelle ronde. L'intestin vient se ranger en couronne autour de cette lamelle et le mésentère se trouve ainsi régulièrement tendu. On y ajoute du picrocarminate et, après un séjour de vingt-quatre heures dans une chambre humide, la membrane est colorée; pour la conserver, il suffit d'introduire de la glycérine.

Examinons alors à un faible grossissement la partie de cette membrane située entre les vaisseaux; nous y verrons un revêtement endothélial continu, dans lequel se distinguent des cellules ayant un groupement particulier. Ces cellules forment des systèmes rayonnés, au centre desquels il existe une ou deux cellules rondes, granuleuses et beaucoup plus petites que les autres (fig. 149 et fig. 150).

Pour savoir à quoi correspondent ces cellules dans la membrane, il est nécessaire de recourir à un autre mode de préparation qui nous permet d'observer le mésentère dépourvu de son revêtement endothélial. A cet effet, la membrane est colorée au picrocarminate et traitée par le pinceau. Elle montre alors des trous simples (voy. fig. 151) ou divisés par des travées. Dans ce dernier cas, ils représentent, pour ainsi dire, des épiploons en miniature (fig. 152). C'est au niveau de ces trous que dans les préparations imprégnées, nous avons vu une ou deux cellules rondes et granuleuses. Nous pouvons donc conclure de là que dans le mésentère de la grenouille il y a, entre les rayons vasculaires, des cellules rondes qui habitent dans des trous et qui sont là comme des tampons destinés à boucher momentanément ces ouvertures.

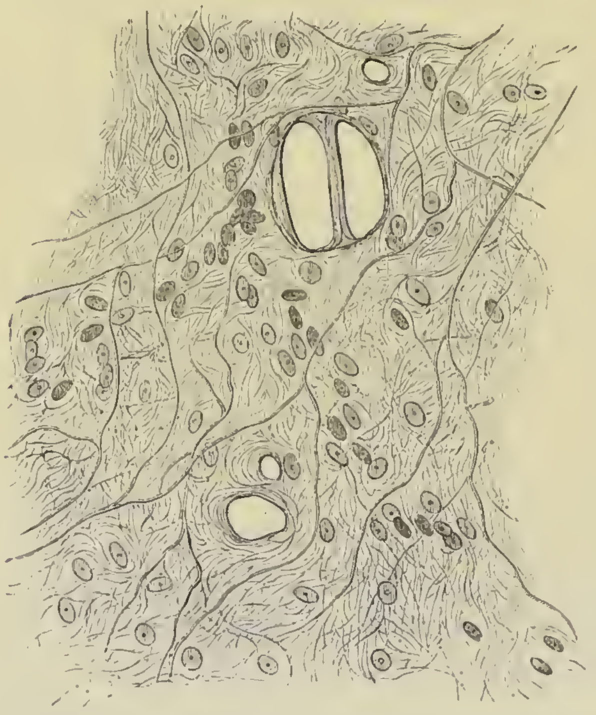


Fig. 151. — Mésentère de la grenouille coloré au picrocarminate et traité au pinceau. — 120 diam.

Si nous revenons à la préparation imprégnée à l'argent et colorée, pour examiner la partie du mésentère qui est située au-dessus des vaisseaux, nous y trouverons des cellules qui diffèrent de celles qui les entourent par une forme plus arrondie, des dimensions moindres et un état granuleux de leur substance. Elles ne correspondent pas à des trous qui traverseraient toute l'épaisseur du mésentère, mais à des logettes dont le fond correspond aux gaines lymphatiques périvasculaires (voy. *Vaisseaux lymphatiques*). Ces cellules, plus molles que les autres, peuvent se laisser écarter et constituent des stomates à lèvres mobiles.

Repli méso-péricardique du chien. — Pour compléter cette étude des membranes conjonctives présentant des mailles, nous allons décrire la structure du repli méso-péricardique du chien; elle présente, comme nous le

verrons, un certain intérêt au point de vue de la morphologie du tissu conjonctif.

Chez le chien, le lapin et le cochon d'Inde, le péricarde n'est pas adhérent au thorax et au diaphragme comme chez l'homme; il est libre, mobile dans la cavité thoracique et retenu seulement à la face profonde du sternum et au diaphragme par une membrane flottante. Cette membrane, dont la structure est analogue à celle du grand épiploon, présente encore chez le chien une particularité remarquable. Au lieu d'être simple, c'est-à-dire d'être tout entière dans un seul plan, elle est complexe. En certains points, on y trouve des travées sur deux plans différents. Par exemple, d'une des travées du réseau part une travée transversale qui s'élève au-dessus des autres, en croise plusieurs en passant par-dessus et revient se continuer avec des travées qui sont dans le plan commun.

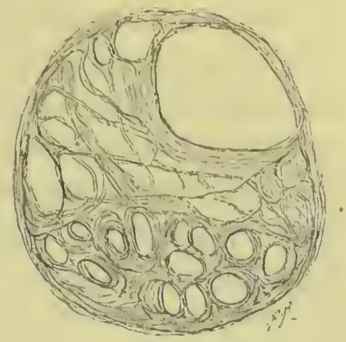


Fig. 152. — Un des trous réticulés du mésentère de la grenouille, coloré au picrocarminate et traité au pinceau. — 120 diam.

Le repli méso-péricardique du chien se rapproche par cette disposition du tissu conjonctif diffus, ou mieux encore du tissu réticulé des ganglions lymphatiques, comme on le verra plus loin, et, possédant cependant la structure générale du grand épiploon, il rattache les unes aux autres les différentes formes du tissu conjonctif.



Fig. 153. — Mésentère de la grenouille imprégné d'argent. Endothélium au-dessus des gaines lymphatiques périvasculaires. — *c*, cellules endothéliales ordinaires; *m*, grande cellule granuleuse; *s*, deux cellules granuleuses laissant entre elles une stomate semblable à celles des végétaux; *p*, deux cellules analogues plus petites; *n*, noyaux. — 300 diam.

Notons encore que, chez le chien, les plus grosses travées du repli méso-péricardique possèdent des vaisseaux et présentent des renflements fusiformes dans lesquels des cellules lymphatiques sont accumulées en grand nombre. A ce point de vue, il se rapproche du grand épiploon du marsouin.

Centre phrénique. — Le centre tendineux du diaphragme, bien qu'il puisse être considéré comme un tendon plat, présente cependant quelques dispositions qui lui sont tout à fait spéciales, et sur lesquelles nous insisterons à cause de leur importance physiologique.

Depuis que Recklinghausen[1] a démontré que le centre phrénique absorbe par sa face péritonéale des parties solides, cet organe a été de la part des histologistes l'objet d'études nombreuses et attentives. Voici comment il faut faire l'expérience de Recklinghausen : Chez un lapin que l'on vient de sacrifier, la cavité thoracique est largement ouverte; les poumons et le cœur sont enlevés, et sur la face thoracique du centre phrénique est appliqué un disque de liège muni d'une ouverture centrale. Par la cavité abdominale également ouverte, on fixe avec des épingles le diaphragme contre ce disque de liège, de manière que le centre phrénique se trouve libre sur ses deux faces. Cette partie du diaphragme étant alors circonscrite par une incision, on la détache. On obtient ainsi une portion du centre phrénique bien tendue, qui peut être portée sur la platine du microscope avec le cadre de liège qui la maintient. Lorsqu'elle y est placée, elle est arrosée sur sa face péritonéale, qui doit être tournée en haut, de quelques gouttes de lait dilué avec de l'eau sucrée. Observant alors à un grossissement de 50 à 100 diamètres, on voit se produire dans le liquide une série de tourbillons. Ensuite, la préparation étant lavée à l'eau, on constate que les vaisseaux lymphatiques sont remplis de globules de lait.

Cette expérience prouve que les canaux lymphatiques du centre phrénique peuvent absorber des particules solides qui se trouvent dans la cavité abdominale; elle conduit naturellement à supposer que ces canaux possèdent des ouvertures sur la face péritonéale du diaphragme.

Nous allons reprendre avec détail l'étude du centre phrénique et indiquer les diverses méthodes à l'aide desquelles on peut en reconnaître la structure. Le centre phrénique d'un lapin, présente du côté pleural des fibres paraboliques concentriques, tandis que du côté péritonéal on y remarque des fibres radiées séparées les unes des autres par des espaces plus clairs. Ces deux systèmes de fibres n'appartiennent ni à la plèvre ni au péritoine, car lorsque les deux feuillets superficiels qui correspondent à ces séreuses ont été enlevés, la membrane intermédiaire qui reste seule montre encore sa disposition radiée du côté abdominal et ses fibres paraboliques du côté pleural.

Pour étudier la disposition des vaisseaux lymphatiques, Ludwig et Schweigger-Seidel[2] ont eu recours à la méthode suivante : chez un lapin tué par hémorrhagie, la cavité abdominale est ouverte. La veine cave, l'aorte et l'œsophage sont pris dans une ligature commune qui passe autour de la colonne vertébrale. Le lapin est ensuite coupé en deux moitiés par le travers, au-dessous du diaphragme. La moitié thoracique est suspendue, la tête en bas, au moyen de trois à quatre ficelles passées dans les téguments, de manière que la concavité péritonéale du diaphragme soit disposée comme une coupe. On y verse une certaine quantité de bleu de Prusse dissous dans l'eau et, en faisant la respiration artificielle au moyen d'une canule que l'on a préalablement introduite dans la trachée, on imprime au dia-

1. *Recklinghausen*, Das Lymphgefässystem. *Stricker's Handbuch*, p. 222.

2. *Ludwig et Schweigger-Seidel*, Arbeiten aus der physiologischen Anstalt zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig. Leipzig, 1867, t. I, p. 174.

phragme des mouvements alternatifs d'élévation et d'abaissement[1]. Lorsque cette manœuvre a été pratiquée pendant quelques minutes, la face péritonéale du diaphragme est lavée à l'eau distillée pour enlever le bleu en excès; puis on y verse de l'alcool pour fixer les éléments et pour rendre le bleu insoluble. Le centre phrénique est ensuite détaché et étendu à plat.

En examinant à l'œil nu, on y trouve fort exactement ce qu'ont indiqué Ludwig et Schweigger-Seidel. Sur la face péritonéale se distinguent, entre les fibres rayonnées, des fentes remplies de la masse à injection. Sur la face pleurale, se présente au contraire un réseau dans lequel viennent aboutir des lymphatiques ramifiés. Il est facile de se convaincre, en faisant varier la durée de l'expérience, que les fentes rayonnées se remplissent avant les vaisseaux lymphatiques du côté pleural.

Cette injection montre donc clairement qu'entre les fibres radiées il existe des conduits lymphatiques en forme de fentes, communiquant d'une part avec la cavité péritonéale et de l'autre avec les vaisseaux lymphatiques sous-pleuraux.

Ces fentes peuvent être étudiées avec avantage dans des coupes perpendiculaires à la surface du centre phrénique. Pour les faire, on peut prendre un diaphragme non injecté ou un diaphragme injecté au bleu par le procédé de Ludwig. Dans l'un et l'autre cas, la membrane, tendue régulièrement sur une lame de liège et fixée à l'aide d'épingles, est d'abord placée pendant vingt-quatre heures dans le liquide de Müller ou dans l'alcool absolu. Le durcissement est ensuite complété par l'action successive de la gomme et de l'alcool. Les coupes, faites au rasoir après inclusion dans de la moelle de sureau, placées dans l'eau pour dissoudre la gomme, colorées au picrocarminate et montées en préparations persistantes dans la glycérine, nous montrent les trois couches dont il a été question : deux marginales, formées par du tissu conjonctif diffus ou rétiforme, appartenant l'une à la plèvre, l'autre au péritoine, et entre elles la membrane tendineuse proprement dite.

Si la section a été faite bien perpendiculairement à la direction des fibres radiées, on reconnaît dans chacune de celles-ci une disposition semblable à celle que montrent les petits tendons de la queue des mammifères coupés en travers (voy. p. 291). Ce sont les mêmes figures étoilées, colorées en rouge et les mêmes sections circulaires de petits faisceaux tendineux. Les fibres radiées du centre phrénique ne sont donc pas de simples faisceaux de tissu conjonctif, ainsi qu'on pourrait le supposer quand on les examine à l'œil nu. Chacune d'elles représente un véritable petit tendon.

C'est entre deux de ces petits tendons que se voit la section de la fente lymphatique qui paraît comme une tache bleue si la pièce a été injectée, ou comme un espace vide, si elle n'a pas été soumise à l'injection. Cet espace est limité sur les côtés par les deux tendons marginaux, ainsi que nous venons de le dire; en bas, par le feuillet connectif du péritoine; en haut, le plus souvent par un tendon placé entre les deux premiers sur un plan supérieur, ou bien simplement par le feuillet pleural.

1 Pour la description de l'appareil à respiration artificielle, voyez l'article Muscle

On y observe assez souvent la disposition suivante : au centre de l'espace qui correspond à la fente lymphatique, se montre la coupe d'un petit faisceau tendineux qui, dans les pièces injectées, est entourée de bleu. Parfois, au lieu d'un faisceau tendineux, on y trouve un vaisseau sanguin coupé en travers, qui généralement est relié à la paroi par une sorte de méso.

Les coupes transversales du centre phrénique ne suffisent pas pour nous donner des notions complètes de sa structure. Pour acquérir ces notions, il est nécessaire d'employer d'autres méthodes qui nous permettent de bien voir les éléments constitutif de cette membrane. Il faut pour cela que ces éléments soient fixés dans leur forme et que la membrane soit bien tendue.

Le procédé le plus simple pour obtenir ce résultat consiste à verser de l'alcool absolu sur le centre phrénique pendant qu'il est en place. Quand il est fixé par le réactif, il est enlevé et plongé dans l'alcool absolu. Plus tard on en détache avec des ciseaux des fragments qui sont placés dans l'eau, colorés au picrocarminate et examinés dans la glycérine. En les observant du côté péritonéal, on y distingue les tendons séparés par les fentes lymphatiques. En éloignant l'objectif, on trouve, sur un plan plus superficiel, un réticulum comparable à celui du grand épiploon et constitué, comme ce dernier, par des faisceaux de tissu conjonctif qui s'anastomosent les uns avec les autres, de manière à former des travées plus ou moins épaisses.

Ce réticulum ne se voit pas facilement au-dessus des tendons radiés, mais on peut toujours le reconnaître au-dessus des fentes lymphatiques.

En étudiant attentivement les fentes lymphatiques elles-mêmes, on remarque qu'en certains points elles sont traversées obliquement par des faisceaux tendineux isolés qui se dégagent d'un tendon pour aller se confondre avec un autre. Ces faisceaux présentent à leur surface des noyaux aplatis et ne possèdent pas de noyaux dans leur épaisseur. Voilà donc un faisceau tendineux qui, dégagé de son tendon, se montre isolé et recouvert de cellules endothéliales et peut dès lors être considéré comme l'analogue d'une des travées du grand épiploon. Ce fait établit un rapport entre le tissu tendineux, le tissu conjonctif diffus et le tissu rétiforme, et à ce point de vue il a une certaine importance[1].

Dans l'intérieur des fentes, au-dessous du réticulum péritonéal et même dans les mailles de ce réticulum, il existe toujours un nombre plus ou moins considérable de cellules lymphatiques. Au voisinage des gros vaisseaux qui sillonnent la face abdominale du centre phrénique, le réticulum formé par le péritoine est très développé et constitue une sorte de lac lymphatique.

Pour préparer le centre phrénique, on peut aussi employer avec avantage l'acide osmique en solution à 1 pour 100, dont l'action doit être prolongée pendant quelques heures. Lavée à l'eau distillée, placée pendant vingt-quatre heures dans le picrocarminate à 1 pour 100 et lavée de nouveau, la

1. Ludwig et Schweigger-Seidel (*Arbeiten der physiol. Anstalt zu Leipzig*, 1867, t. I, p. 178) ont parfaitement décrit le réticulum qui, du côté péritonéal, recouvre le système tendineux du diaphragme. Ils en ont donné une figure très exacte ; mais les travées tendineuses qui se trouvent entre les faisceaux leur ont échappé.

membrane est montée en préparation persistante dans la glycérine, de telle façon qu'elle se présente par sa surface péritonéale. On y distingue, au-dessous des petits tendons rayonnés, la couche des fibres circulaires qui se trouve du côté pleural. En éloignant au contraire l'objectif, le réticulum formé par le péritoine apparaît nettement, et l'on y voit au niveau des fentes des figures circulaires ou un peu allongées (*p* fig. 154), sortes de lacunes bordées par une rangée de petites cellules rondes. C'est ce que j'appellerai des *puits lymphatiques*.

En abaissant un peu l'objectif, cette figure ne disparaît pas, ce qui prouve que la disposition à laquelle elle répond se continue dans l'intérieur de la préparation. Il s'agit donc là non seulement d'un orifice bordé de cellules, mais d'une véritable gaine de cellules qui se continue jusqu'à ce qu'elle se confonde avec la cavité lymphatique de la fente. L'aspect que présentent les puits lymphatiques examinés ainsi est semblable à celui d'une glande en tube, vue de face du côté de son ouverture.



Fig. 154. — Centre phrénique du lapin, fixé par l'acide osmique, vu par sa face péritonéale. — *f*, fente lymphatique; *t*, tendon; *p*, puits lymphatique. — 120 diam.

Pour se rendre compte de la nature de ces cellules et de leur rapport avec les cellules épithéliales, il est nécessaire d'avoir recours à l'imprégnation d'argent.

A cet effet, le centre phrénique, pris chez un lapin tout à fait frais, est lavé à l'eau distillée et plongé dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Un fragment de la membrane est alors étendu sur une lame de verre et divisé en deux parties, dont l'une est étendue sur sa face pleurale, et l'autre sur sa face péritonéale. Les deux préparations sont montées dans la glycérine. Chacune d'elles présente un revêtement endothélial imprégné d'argent, mais le dessin est loin d'être le même sur les deux faces. Sur la face pleurale, l'imprégnation est plus forte, les lignes intercellulaires sont relativement plus larges, et le réseau qu'elles forment est tout à fait régulier. Sur la face péritonéale (fig. 155) les lignes d'imprégnation sont plus minces et plus nettes, et les cellules varient de forme et de dimension. A côté des grandes cellules polygonales, on voit en certains points des îlots de cellules beaucoup plus petites et plus arrondies (*n*, fig. 155). En examinant une préparation de la face péritonéale, imprégnée, colorée au picrocarminate et conservée dans la glycérine, on peut se convaincre que ces îlots de petites cellules correspondent précisément aux points où se trouvent les puits lymphatiques que nous venons de décrire [1]. En effet, là où à la surface

1. Ludwig et Schweigger-Seidel, dans le mémoire que nous avons eu plusieurs fois l'occasion de citer, ont décrit et figuré cette différence dans la dimension des cellules. D'après eux, les cellules seraient plus grandes au niveau des tendons et plus petites

se présentent ces îlots, l'objectif rapproché de manière à donner l'image de l'intérieur de la membrane permet d'apercevoir la figure des puits lymphatiques.

Ces puits, bien que largement ouverts à la surface péritonéale, peuvent cependant avoir leur orifice obstrué par de petites cellules; mais, comme nous le verrons plus loin (voy. *Vaisseaux lymphatiques*), elles ne sont pas solidement unies, et elles peuvent être facilement déplacées[1].

En résumé, il y a sur la face péritonéale du centre phrénique des orifices bouchés par des cellules molles d'une autre forme que les cellules endothéliales et arrangées d'une autre façon. Ces cellules sont des cellules lymphatiques. Elles se trouvent disposées à l'orifice de canaux ou de puits dont la paroi est elle-même garnie d'une rangée de cellules semblables. Les puits du centre phrénique établissent une communication directe entre la cavité péritonéale et les fentes lymphatiques. Ces dernières communiquent, comme l'injection au bleu de Prusse nous l'a démontré, avec le réseau lymphatique sous-pleural.



Fig. 155. — Centre phrénique du lapin, imprégné d'argent, vu par sa face péritonéale. — *f*, fente lymphatique; *t*, tendons; *c*, cellules endothéliales ordinaires; *n*, îlot de petites cellules. 200 d.

Pour expliquer la pénétration du bleu de Prusse dans les fentes lymphatiques, il est tout à fait inutile d'invoquer l'existence de stomates intercellulaires. Les petites cellules lymphatiques qui occupent les orifices des puits ne les ferment pas d'une manière complète. Elles sont faciles à déplacer et peuvent même pénétrer dans les voies lymphatiques ou tomber dans la cavité péritonéale pour laisser complètement libre l'orifice lymphatique. Ce que nous avons dit plus haut de l'action des cellules lymphatiques sur le revêtement endothélial du grand épiploon du lapin fera suffisamment comprendre comment les ouvertures des puits du centre phrénique, bien que paraissant closes, sont parfaitement perméables.

TISSU CONJONCTIF RÉTICULÉ

Le tissu conjonctif réticulé se trouve surtout dans les ganglions lymphatiques. His en a fait un tissu à part, sous le nom de tissu adénoïde, parce que

au niveau des fentes; mais ils ont représenté ces dernières comme des traînées continues qui alternent avec des traînées de grandes cellules, tandis qu'en réalité ce sont des îlots limités.

1. Un procédé qui permet de voir fort nettement les puits lymphatiques consiste à plonger le centre phrénique pendant une heure dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500, puis à le maintenir 15 à 20 heures dans l'eau distillée. L'épithélium se détache, et dans la membrane, examinée du côté péritonéal et complètement débarrassée de son revêtement endothélial, on aperçoit les puits avec leur garniture marginale de petites cellules. En abaissant l'objectif, il est possible de reconnaître que, par leur orifice profond, ils correspondent à une des fentes lymphatiques inter-tendineuses, dont la paroi est recouverte de l'endothélium caractéristique des capillaires lymphatiques chez le lapin. Nous reviendrons sur cette disposition à propos du système lymphatique.

les Allemands, ayant conservé les vieilles traditions anatomiques, appellent les ganglions glandes lymphatiques. Kölliker, pensant qu'il est formé uniquement par des cellules et des prolongements cellulaires, lui a donné le nom de tissu cytogène. En réalité, le tissu qui forme la charpente des ganglions lymphatiques présente une grande analogie avec celui du grand épiploon. Il n'en diffère que par la minceur extrême des faisceaux qui le constituent et par ce fait que ses travées, au lieu d'être sur un seul plan, se croisent dans tous les plans.

Le repli mésopéricardique du chien, dans lequel il y a des travées qui s'entre-croisent (voy. p. 515), forme une sorte d'intermédiaire entre le grand épiploon et le stroma des ganglions lymphatiques, et c'est à ce point de vue qu'il offre un intérêt tout particulier.

Pour étudier le tissu des ganglions lymphatiques, on prend un de ces organes, de préférence chez le chien, et on le place dans une solution saturée d'acide picrique. Au bout de vingt-quatre heures, on y fait à main libre avec un rasoir des coupes qui sont placées dans un baquet de verre contenant de l'eau et disposé sur fond noir, et, à l'aide du pinceau, on chasse les cellules lymphatiques qui comblent les mailles du stroma. Lorsque celui-ci est bien dégagé, on examine la coupe dans l'eau ou dans le picrocarminate. Il nous suffit pour le moment de considérer le stroma d'un follicule. Nous le voyons composé de fibres qui se réunissent, se séparent et forment ainsi un réticulum d'une grande délicatesse. Si la préparation est bien réussie, il ne doit rester aucune cellule, aucun noyau, dans les mailles du réticulum ni à la surface des travées. Lorsque le ganglion a séjourné plus de vingt-quatre heures dans la solution d'acide picrique, il devient impossible de chasser avec le pinceau tous les éléments cellulaires, et à la surface des travées on aperçoit des noyaux aplatis, semblables à ceux qui existent à la surface des travées du grand épiploon.

On obtient de fort belles préparations du tissu conjonctif des follicules, en faisant dans un ganglion une injection interstitielle d'acide osmique à 1 pour 100 et en le plaçant ensuite dans l'alcool. Ce réactif donne une consistance suffisante pour faire des coupes, qui, traitées au pinceau, fournissent des préparations où les noyaux de la surface des travées se montrent avec une très grande netteté.

On peut donc, suivant qu'on le désire, avoir du tissu réticulé sans aucun élément cellulaire ou du tissu réticulé dont les travées sont recouvertes de cellules endothéliales.

Ces observations combinées démontrent que les travées des ganglions lymphatiques ne sont pas constituées uniquement par des cellules ramifiées réunies par leurs prolongements, mais qu'elles sont bien formées par des fibres de tissu conjonctif réunies en réseau et tapissées de cellules endothéliales.

La notion sommaire que nous venons de donner de ce tissu nous suffit en ce moment pour établir les relations qui existent entre les différentes parties du système conjonctif, et nous renvoyons au chapitre spécial, consacré aux

ganglions lymphatiques, l'historique de la question, la description de ces organes et les méthodes à employer dans leur étude.

TISSU CONJONCTIF LAMELLEUX OU ENGAINANT

Il est une variété de tissu conjonctif que nous avons décrite sous le nom de tissu conjonctif lamelleux ou engainant[1]. Ce tissu est constitué par une série de lames connectives ne contenant pas d'éléments cellulaires dans leur intérieur, mais séparées les unes des autres par des cellules plates, formant parfois, dans la gaine lamelleuse des nerfs par exemple, une couche endothéliale continue. Ces lames sont composées de faisceaux connectifs et de fibres élastiques noyés dans une substance amorphe, que sa constitution chimique rapproche, soit de la couche périphérique des faisceaux du tissu conjonctif diffus, soit des fibres annulaires et spirales des mêmes faisceaux

Dans une coupe transversale de nerf, faite après durcissement par l'acide picrique, la gomme et l'alcool, colorée au carmin et examinée dans la glycérine additionnée d'acide formique à un grossissement de 50 à 100 diamètres, chaque faisceau nerveux paraît entouré d'un anneau fortement coloré en rouge, tandis que le tissu conjonctif voisin qui relie les différents faisceaux est à peine coloré. Cette différence dans la coloration suffirait à elle seule pour montrer que la gaine connective du faisceau nerveux, qui apparaît sur la coupe comme un anneau, a une composition différente de celle du tissu conjonctif diffus. Lorsque l'on applique à cette étude un grossissement un peu considérable, 400 à 500 diamètres, cette gaine se montre formée d'une série de lamelles circulaires imbriquées, entre lesquelles on aperçoit des noyaux.

Pour faire une analyse plus complète de la gaine lamelleuse des faisceaux nerveux, on emploiera avec avantage la méthode suivante : une partie de gélatine ramollie dans l'eau distillée est fondue au bain-marie et mélangée à une demi-partie d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 100. Introduite dans une seringue hypodermique, elle est injectée dans l'épaisseur du nerf sciatique d'un lapin que l'on vient de sacrifier. La masse pénètre dans le tissu conjonctif du nerf. Celui-ci est alors enlevé et, après la solidification de la gélatine par le refroidissement, il est placé dans de l'alcool. Dans les coupes transversales du nerf faites après le durcissement et examinées dans la glycérine, on constate que les différentes lames de la gaine périfasciculaire sont séparées les unes des autres par la masse d'injection. Elles sont colorées en noir par l'argent et sont unies les unes aux autres par des lamelles communes obliques, de telle façon que leur ensemble constitue une sorte de système caverneux facilement injectable.

Chez le chien, il n'est pas aussi facile d'écarter les différentes lames de la gaine fasciculaire à l'aide des injections. Le plus souvent, dans les coupes transversales du nerf sciatique ou de tout autre gros nerf, faites par le pro-

1. *Recherches sur l'histologie et la physiologie des nerfs.* Archiv. de physiol., 1872, p. 429.

cédé que nous venons d'indiquer, les lamelles de la gaine sont encore accolées ou simplement séparées les unes des autres par le dépôt d'argent. Ce dépôt s'est fait sur la couche endothéliale, ainsi qu'on peut s'en assurer en dissociant avec des aiguilles des coupes parallèles à l'axe du nerf. Ces couches endothéliales peuvent être facilement reconnues sur des nerfs minces qui ont été immergés pendant quelques minutes dans une solution de nitrate d'argent. Nous reviendrons sur ces préparations à propos du système nerveux.

Mais il est une disposition des fibres connectives et surtout des réseaux élastiques dans les lames de la gaîne lamelleuse qui doit nous arrêter un instant, à cause de son importance. Un nerf volumineux, le sciatique ou le pneumogastrique de l'homme ou du chien, est placé pendant plusieurs semaines dans une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. Lorsqu'il y est durci, il est facile d'en séparer les gros faisceaux nerveux et de les dégager de leur tissu conjonctif interfasciculaire. Un de ces faisceaux, bien isolé et plongé dans l'eau, est fendu suivant sa longueur. Les deux bords de l'incision étant rabattus, on enlève, à l'aide d'une pince, tous les tubes nerveux. On obtient ainsi une membrane enroulée qui possède un éclat comparable à celui de la baudruche gommée. En agissant sur cette membrane à l'aide des aiguilles, on peut la décomposer en un grand nombre de lames. On choisit parmi les plus internes celles qui ont la plus grande minceur, et en les plaçant dans la glycérine, après coloration au carmin, on obtient des préparations bien instructives. On y voit des faisceaux de tissu conjonctif incrustés dans une substance fondamentale homogène. Dans l'intérieur de celle-ci, si le nerf provient d'un animal adulte ou avancé en âge, se montrent des plaques réfringentes irrégulières ou étoilées, de dimensions très variables (fig. 156). Leurs bords sont entourés de granulations rondes, réfringentes, formées par une substance semblable à celle qui constitue les plaques elles-mêmes, de telle sorte que ces dernières semblent avoir été formées par un amas de ces granulations. Ailleurs, ces granulations, au lieu de se réunir en plaques, se



Fig. 156. — Lame la plus interne de la gaine lamelleuse du nerf pneumogastrique du chien adulte, séparée après macération prolongée dans une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. — *P*. plaque élastique ; *g*. grain élastique ; *r*. substance intermédiaire ; *r*. fibre composée de grains ; *fc*. faisceau conjonctif. — 400 diam.

disposent en chapelets et forment des réseaux compliqués. Quelques-unes des branches de ce réseau sont cylindriques et homogènes. Enfin, il y a des réseaux dont la forme est irrégulière et l'étendue variable, et qui sont composés uniquement de fibres semblables à celles qui proviennent de la confluence des grains.

Ces grains, ces fibres et ces plaques présentent les caractères physiques et microchimiques de la substance élastique : Formes arrêtées et grande réfringence, résistance à l'acide acétique et à la potasse, coloration par l'iode et l'acide picrique, etc.

Dans le tissu conjonctif de la gaîne lamelleuse des nerfs, le tissu élastique se montre donc sous trois formes : grains, fibres et plaques. Mais la forme primitive paraît être celle de grains, et les fibres et les plaques semblent être constituées par des grains accolés.

Plus loin, en traitant du développement du tissu conjonctif, nous rapprocherons ce fait de la formation du réticulum élastique de certains cartilages, et nous verrons que le développement des fibres et des lames élastiques par des grains est un fait d'une assez grande généralité.

DÉVELOPPEMENT DU TISSU CONJONCTIF

Pour se rendre compte du développement du tissu conjonctif, il importe d'étudier d'abord le développement des divers éléments qui le constituent : les cellules fixes, les cellules lymphatiques, les faisceaux connectifs, les fibres élastiques et les cellules adipeuses. C'est seulement après avoir examiné la série des faits relatifs à la formation de chacun de ces éléments que nous essayerons de formuler une conclusion sur le développement du tissu conjonctif en général.

Développement des cellules. — Les cellules fixes sont, à leur origine, des cellules du feuillet moyen du blastoderme et possèdent, à cette période, de grandes analogies avec les cellules lymphatiques. Peu à peu, dans les points où il se formera du tissu conjonctif, ces cellules s'accroissent en longueur, prennent la forme de fuseaux et représentent alors ce que l'on a nommé *corpuscules à queue* ou *cellules fibro-plastiques*.

Si nous étudions ces cellules chez un embryon de bœuf de 15 centimètres de longueur, nous voyons qu'elles possèdent, au moment où les faisceaux connectifs apparaissent, la forme qu'elles auront dans le tissu conjonctif adulte. Il y en a encore quelques-unes qui sont tout à fait rondes, mais la plupart sont plates, membraneuses et présentent des prolongements plus ou moins longs, qui tantôt sont indépendants et se terminent librement, tantôt se continuent avec ceux d'une cellule voisine. Ces prolongements sont quelquefois très nombreux pour une même cellule ; ils se ramifient et s'anastomosent soit entre eux, soit avec des prolongements des cellules voisines, de manière à former un réseau très complexe.

Les cellules lymphatiques existent à toutes les périodes dans le tissu conjonctif, avec les formes et les propriétés que nous leur avons reconnues

dans le tissu adulte. Cela tient à ce qu'elles se renouvellent sans cesse et que ce sont par conséquent toujours des cellules jeunes que l'on observe.

Développement des faisceaux. — Les premières notions sur le développement des faisceaux du tissu conjonctif ont été données par Schwann[1] dans l'ouvrage qui a fondé sa célébrité. Il soutenait que les cellules formatrices du tissu conjonctif (corpuscules à queue) s'allongent et se transforment à leurs extrémités en un pinceau de fibrilles. C'est ainsi qu'une seule cellule engendrerait un faisceau de tissu conjonctif en se décomposant tout entière en fibrilles.

Plus tard, Valentin[2] modifia un peu la conception de Schwann. D'après cet auteur, la cellule formatrice s'étirerait en pointes à ses deux extrémités et formerait une seule fibrille, de telle sorte que, pour constituer un faisceau conjonctif, il faudrait autant de cellules qu'il contient de fibrilles, c'est-à-dire un nombre très considérable.

Henle[3], au contraire, fut conduit, par des vues systématiques sur la formation des tissus, à soutenir que les faisceaux de tissu conjonctif se développent dans un blastème primitif, indépendamment des cellules.

Tout en rejetant la conception générale de ce dernier auteur, Reichert[4] et Donders[5] se firent les défenseurs de la formation extracellulaire des fibres du tissu conjonctif. Virchow[6] surtout, avec sa nouvelle conception de la cellule de tissu conjonctif adulte, qu'il considérait comme une cellule creuse, étoilée et anastomosée par ses prolongements avec les cellules voisines, ne pouvait admettre qu'elle donnât naissance aux faisceaux connectifs. La manière de voir de Virchow sur le développement du tissu conjonctif, qui n'est qu'une modification de celle de Henle, a régné pendant un certain temps d'une façon absolue dans la science; elle a même rallié les anciens partisans de la théorie de Schwann, entre autres Gerlach[7] et Kölliker[8]

Cependant un élève de Max Schultze, F. Boll[9], a essayé d'appliquer les

1. *Schwann*, Microscopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Structur und dem Wachsthum der Thiere und der Pflanzen, 1839, p. 135.

2. *Valentin*, Artikel Gewebe, R. Wagner's Handwörterbuch der Physiologie, 1842, vol. I, p. 670.

3. *Henle*, Allgemeine Anatomie, 1841, p. 197 et 379.

4. *Reichert*, Bemerkungen zur vergleichenden Naturforschung und vergleichenden Beobachtungen über Bindegewebe und die verwandten Gebilde. Dorpat, 1845.

Zur Streitfrage über die Gebilde der Bindesubstanz, über die Spiralfaser und über den Primordialschädel. *Müller's Archiv*. 1852, p. 521.

5. *Donders*, Form, Mischung und Function der elementären Gewebetheile, etc. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 1851, t. III, p. 354.

6. *Virchow*, Ueber die Identität von Knochen — Knorpel — und Bindegewebskörperchen sowie über die Schleimgewebe. *Würzburger medicin. Verhandl.* 1852, II, p. 150. Weitere Beiträge zur Struktur der Gewebe der Bindesubstanz. *Ibid.*, p. 314.

7. *Gerlach*, Handbuch der allgemeinen und speciellen Gewebelehre des menschlichen Körpers. 2e édit. Mayence, 1853, p. 96.

8. *Kölliker*, Neue Untersuchungen über die Entwickelung des Bindegewebes. Würzburg, 1861.

9. *F. Boll*, Untersuchungen über den Bau und die Entwickelung der Gewebe. Berlin, 1871, p. 28 et suivantes.

conceptions morphologiques de son maître à la question de la formation des faisceaux du tissu conjonctif. Nous rappellerons que d'après Schultze une cellule embryonnaire est constituée par un noyau enveloppé d'une masse de protoplasma. Lorsque cette cellule, indifférente à l'origine, acquiert par suite de son évolution une forme définie pour constituer un tissu adulte, ses couches périphériques seraient modifiées, et il ne resterait du protoplasma qu'autour du noyau. C'est ainsi que dans une cellule nerveuse adulte, exemple que, dans ses conversations particulières, Schultze prenait de préférence, lorsqu'il voulait faire comprendre sa théorie, il y aurait autour du noyau une petite masse granuleuse, reste du protoplasma primitif, tandis que les régions périphériques de la cellule qui présentent une striation spéciale posséderaient seules les fonctions nerveuses [1].

Boll a observé, dans le tissu conjonctif en voie de formation, chez des embryons de poule, des cellules munies de prolongements fins réunis en grand nombre comme les poils d'un pinceau, et il en conclut que ce sont là des fibres connectives naissantes provenant d'une transformation directe du protoplasma cellulaire. Sa manière de voir se rapproche donc de celle de Schwann, en ce sens que le faisceau connectif serait formé par une seule cellule, et au fond sa description ne diffère de celle de cet auteur que parce qu'il y introduit la notion nouvelle du protoplasma.

Tous ces histologistes ont fondé leurs théories sur l'examen du tissu conjonctif embryonnaire à l'état frais et sans réactifs, ils ont donc tous observé les mêmes faits avec la même méthode. De leur divergence d'opinion, il faut conclure que ces faits ne sont pas assez précis pour que l'on puisse en tirer une conception bien nette du développement des fibres connectives. Il est probable même que, s'il survenait une nouvelle théorie générale sur la formation des tissus, on l'appliquerait au même objet avec le même succès.

Si l'observation directe du tissu conjonctif des embryons de mammifères ou d'oiseaux, sans le secours d'aucun réactif, ne peut fournir des images assez nettes, il faut chercher d'autres objets d'étude. C'est ce que nous allons faire ici. De l'ensemble de nos observations nous pourrons tirer des conclusions sinon absolues, du moins mieux fondées que celles qui découlent de théories générales établies à l'avance.

Pour bien faire comprendre l'importance des méthodes, commençons par une observation simple. Chez un embryon de bœuf, de 15 centimètres de longueur environ, un pli fait à la peau est excisé. Le tissu conjonctif qui

1. Beale (*The microscope and its application to practical Medicine*, 1867, p. 28) a émis, sur la formation des tissus, une opinion qui se rapproche de celle de Schultze et qui lui est antérieure. Pour l'histologiste anglais, tous les tissus de l'organisme sont constitués par deux substances : *germinal matter* et *formed material*. Le *formed material*, nous dirions en français le matériel formé, auquel appartiennent les fibres du tissu conjonctif, dérive de la *germinal matter*, qui correspondrait ainsi au protoplasma de Schultze. Cette conception paraît analogue à celle de Schultze, mais ce qui lui ôte toute valeur scientifique, c'est la manière dont Beale distingue ces deux éléments essentiels : tout ce qui se colore par son carmin à la glycérine est *germinal matter*, tout ce qui reste incolore est *formed material*.

recouvre les muscles est ainsi mis à découvert. Ce tissu est gélatiniforme et chargé de sucs. Il est facile d'en enlever un petit fragment avec des ciseaux courbes. Ce fragment, étendu sur une lame de verre et recouvert d'une lamelle, nous fournit une préparation dans laquelle on reconnaît les éléments constitutifs du tissu, mais elle renferme trop d'objets superposés pour que l'étude en soit facile. D'autre part, si le tissu est dissocié à l'aide des aiguilles, les rapports des divers éléments sont tellement changés qu'il n'est pas possible de tirer de cette observation une conclusion légitime sur leur disposition normale.

On aurait beau observer longtemps cette préparation, appliquer à son observation les grossissement les plus variés, même les plus considérables, on n'arriverait certainement pas à acquérir des notions exactes sur les relations des éléments. Pour résoudre la difficulté, il faut employer une méthode de dissociation qui ne change pas le rapport des parties constituantes du tissu, tout en accusant les caractères différentiels de chacune d'elles. Les injections interstitielles de sérum fortement iodé fournissent, dans le tissu conjonctif embryonnaire, celui qui double la peau d'un embryon de bœuf de 15 à 25 centimètres par exemple, des boules d'œdème artificiel dans lesquelles on peut enlever avec des ciseaux des fragments qui, légèrement comprimés par la lamelle à recouvrir, montrent les différents éléments constitutifs du tissu plus ou moins colorés par l'iode. Pour obtenir cette coloration, indispensable dans l'étude que nous faisons, il est nécessaire que le sérum soit fortement iodé (voy. p. 67).

Dans ces préparations, les cellules, ainsi que leurs prolongements, sont granuleuses et colorées en jaune. A côté d'elles, se trouvent des fibres qui mesurent depuis 1 μ jusqu'à 5 ou 6 μ de diamètre. Ces fibres ne sont pas colorées et ne sont pas granuleuses, de sorte qu'il est facile de les distinguer des prolongements protoplasmiques des cellules. De plus, elles ne présentent pas d'anastomoses comme ces derniers et se poursuivent avec le même diamètre dans toute l'étendue de la préparation. Quelques-unes de ces fibres longent ou croisent les prolongements cellulaires et paraissent à une observation superficielle se confondre avec eux. Quelquefois une cellule, se trouvant placée au-dessus ou au-dessous d'une fibre, semble, lorsque l'examen est fait avec un objectif insuffisant, lui donner naissance. Mais, en examinant les préparations avec un objectif à grand angle d'ouverture, j'ai toujours pu résoudre ces difficultés, et je n'ai jamais vu en aucun point une fibre se continuer directement avec une cellule. Dans cette observation, le sérum fortement iodé est, je le répète, d'un très grand secours, parce qu'il détermine, entre les ramifications protoplasmiques des cellules et les faisceaux connectifs en voie de formation, des différences tellement grandes qu'il est impossible de les confondre. Les ramifications cellulaires y deviennent fortement granuleuses et y sont colorées en jaune plus ou moins intense, tandis que les faisceaux connectifs y restent presque incolores et conservent leur aspect nacré et fibrillaire.

Cette première observation du tissu conjonctif en voie de développement

chez un embryon de mammifère semble prouver que les faisceaux de tissu conjonctif se développent à côté des cellules, et que celles-ci ne les constituent pas par une transformation directe de leur substance.

Voici maintenant une observation d'un genre tout à fait différent et qui conduit au même résultat. La substance fondamentale du cartilage peut, dans certaines conditions, se décomposer en fibrilles semblables à celles du tissu conjonctif. Au centre des cartilages costaux de l'homme il se produit une transformation de ce genre. Mais, pour l'observer d'une manière complète, il vaut mieux l'étudier dans la sclérotique de la raie. En effet, chez cette espèce de poissons, ainsi que chez beaucoup d'autres, chez la grenouille également, la sclérotique est formée de cartilage. C'est là un premier fait intéressant, car il prouve que, suivant les animaux, le tissu cartilagineux peut se substituer au tissu conjonctif, et réciproquement, pour former un même organe.

Une sclérotique de raie ayant séjourné dans le liquide de Müller pendant quelques jours, on y fait des coupes transversales au niveau de son pôle postérieur. Ces coupes, colorées au carmin, nous montrent un fort beau tissu cartilagineux, formé de grandes capsules primitives contenant un nombre variable de capsules secondaires. Les capsules primitives sont séparées les unes des autres par une substance fondamentale d'une transparence parfaite. Mais, en certains points, des portions plus ou moins étendues de cette substance paraissent décomposées en fibrilles d'une grande minceur qui se colorent en rouge par le carmin, tandis que la substance fondamentale hyaline est à peine teintée.

Il résulte de cette seconde observation que des fibrilles de tissu connectif peuvent se former au sein de la substance cartilagineuse par une transformation de cette substance, sans la participation directe des cellules, puisque toutes celles qui existent sont renfermées dans des capsules.

Un deuxième exemple de la transformation de la substance cartilagineuse en fibres connectives nous est fourni par les tendons en voie de développement. Pour l'observer, il faut procéder de la façon suivante :

Chez un lapin nouveau-né, le calcanéum est détaché avec le tendon d'Achille, plongé dans une solution d'acide picrique pour le décalcifier, puis dans la gomme et ensuite dans l'alcool pour le durcir. On y fait alors des coupes parallèles à l'axe du tendon. Ces coupes, après avoir été placées dans l'eau pour enlever la gomme, sont colorées au picrocarminate et examinées dans la glycérine à un grossissement de 100 à 150 diamètres. On y voit (fig. 157) les capsules de cartilage qui, sur le calcanéum, sont en groupes irréguliers, se disposer, dans le voisinage du tendon, en séries linéaires parallèles à l'axe de ce dernier, en laissant entre elles des bandes de substance fondamentale. Ces bandes de substance cartilagineuse se continuent directement avec les faisceaux du tendon. Les séries linéaires de capsules se continuent aussi sans interruption avec les traînées de cellules qui se trouvent entre les faisceaux tendineux.

A un grossissement plus considérable, 400 ou 500 diamètres, il est pos-

sible de suivre ces transformations dans tous leurs détails. Les cellules capsulées du calcanéum cartilagineux y forment de petits groupes arrondis à une faible distance de l'insertion tendineuse. Plus près de cette dernière, elles se disposent en groupes allongés suivant la direction des faisceaux du tendon, et lorsqu'elles l'atteignent, elles s'égrènent pour ainsi dire pour se disposer une à une entre ces faisceaux (fig. 157). Enfin, les capsules se dissolvent, et les cellules devenues libres reprennent leur caractère embryonnaire. Ce n'est que plus loin encore, lorsque le tendon est définitivement constitué, que ces cellules s'aplatissent, pour revêtir leur forme caractéristique.



Fig. 157. — Coupe longitudinale antéro-postérieure du calcanéum et du tendon d'Achille d'un lapin nouveau-né, après durcissement par l'acide picrique, la gomme et l'alcool. Coloration par le picrocarminate. — *T*, tendon; *C*, cartilage; *s*, substance fondamentale du cartilage; *b*, cellules du cartilage groupées au voisinage du tendon; *S*, substance du tendon; *a*, cellules du tendon disposées en séries. — 250 diam.

Le microscope polarisant appliqué à l'étude de l'union des cartilages et des tendons nous fournit des renseignements précieux. Les meilleures préparations sont celles que l'on obtient en faisant des coupes dans les tissus frais, comprenant à la fois le cartilage et le tendon et parallèles à l'axe de ce dernier. Nous avons vu (p. 244) que le cartilage fœtal et le cartilage embryonnaire sont monoréfringents, c'est-à-dire que, les deux nicols étant croisés et le champ du microscope obscur, une coupe de ces cartilages ne rétablit pas la lumière, quelle que soit son orientation. D'un autre côté, nous avons reconnu (p. 298) que les tendons sont biréfringents; disposés en long sur la platine du microscope, les deux nicols étant croisés, ils rétablissent la lumière, excepté dans deux directions perpendiculaires entre elles et comprises dans les plans de polarisation des nicols.

En rapprochant ces deux observations, il est tout naturel de supposer qu'à l'aide de la polarisation il sera possible de déterminer exactement la limite entre le cartilage et le tendon. Si nous pratiquons, sur le calcanéum et le tendon d'Achille d'un lapin nouveau-né ou d'un embryon de mammifère, une coupe antéro-postérieure passant par l'axe du tendon, et que celle-ci soit placée dans l'eau sur la platine du microscope polarisant, les deux

nicols étant croisés, nous trouverons facilement une orientation qui fera paraître brillantes les fibres tendineuses, tandis que le cartilage sera obscur. On constatera alors (fig. 158) que chacun des faisceaux du tendon pénètre dans l'épaisseur de la masse cartilagineuse et s'y termine en s'effilant et en devenant de moins en moins lumineux. De cette observation il résulte que les faisceaux tendineux prennent bien naissance dans l'intérieur même de la substance cartilagineuse et que celle-ci, pour devenir du tissu fibreux, subit peu à peu une condensation et une fibrillation qui la rendent biréfringente.

Le développement des tendons et des ligaments aux dépens du cartilage nous explique pourquoi, chez les animaux adultes, ces organes présentent, au niveau de leurs insertions à l'os, entre leurs faisceaux fibreux, des cellules entourées de capsules cartilagineuses, au lieu des cellules habituelles des tendons et des ligaments (voy. fig. 159, p. 298).

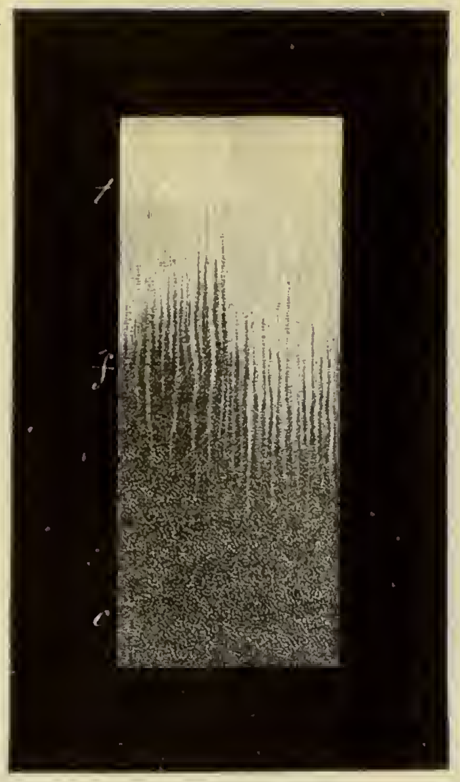


Fig. 158. — Coupe longitudinale antéro-postérieure du calcanéum et du tendon d'Achille d'un embryon de bœuf de 15 centimètres, examinée sur la pièce fraîche dans l'eau à la lumière polarisée et sur champ noir. — c, cartilage; *t*, tendon; *f*, fibres du tendon qui naissent dans le cartilage. — 80 diam.

A la fin de la croissance, le mouvement formateur des tissus étant ralenti, les cellules de cartilage qui s'engagent entre les faisceaux tendineux conservent leurs capsules. Il en résulte un tissu spécial, le fibro-cartilage, ou mieux le cartilage fibreux.

La variété de forme des éléments cellulaires compris entre les faisceaux des tendons et des ligaments peut s'expliquer aisément si l'on tient compte de leur origine. En effet, provenant des cellules du cartilage délivrées de leurs capsules, ces éléments sont d'abord des cellules molles embryonnaires; bientôt pressées entre les faisceaux, elles s'aplatissent. Mais leur origine leur imprime une tendance à revenir à la forme cartilagineuse, et c'est là la cause des dispositions si intéressantes que l'on observe dans les tendons des taupes, dans les tendons cartilaginiformes des oiseaux et dans le nodule sésamoïde du tendon d'Achille de la grenouille. C'est aussi la raison pour laquelle certains tendons, ceux de la patte des oiseaux et ceux des mammifères au voisinage de leurs attaches aux os, subissent si facilement la transformation osseuse.

En rapprochant les uns des autres les quelques faits que nous venons d'étudier et que nous avons choisis entre beaucoup d'autres, parce que leur netteté leur donne une valeur démonstrative, nous sommes conduit à conclure que les faisceaux conjonctifs peuvent se développer sans la participation *directe* des cellules. Nous insistons sur ce point. Il y a en effet toujours

participation *indirecte* des cellules à leur développement, même quand ils prennent naissance dans le cartilage, puisque alors les cellules ont produit la substance fondamentale aux dépens de laquelle ils se forment.

Développement des fibres élastiques. — Le développement des fibres élastiques a été fort discuté. D'après Henle[1], ces fibres se forment aux dépens des noyaux. D'après Donders[2] et Virchow, elles se produisent aux dépens des prolongements des cellules connectives.

Il y a déjà longtemps que H. Müller[3], en étudiant les cartilages du larynx chez l'homme et chez les animaux supérieurs, a montré que ni l'une ni l'autre des théories précédentes ne sont vraies et que les fibres élastiques se forment dans la substance fondamentale primitivement hyaline.

Pour suivre le développement des fibres élastiques, le cartilage aryténoïde de l'homme ou du chien adultes constitue un bon objet d'étude. Les coupes peuvent être faites sur le cartilage frais ou modifié par l'alcool, l'acide picrique, ou mieux encore l'acide osmique. En général, ce cartilage présente une partie qui a subi une transformation élastique complète et une autre partie constituée par du cartilage hyalin. Entre les deux, se trouve une zone intermédiaire dans laquelle l'observation doit principalement porter. Dans cette zone, à un grossissement faible, 80 à 100 diamètres, se montrent des groupes de capsules entourées chacune d'une sorte de couronne granuleuse, de la périphérie de laquelle partent des prolongements également granuleux qui rayonnent dans toutes les directions. Dans les préparations traitées par l'acide picrique et le picrocarminate, toutes ces portions granuleuses sont colorées en jaune.

A un grossissement de 300 à 500 diamètres, on reconnaît que cette apparence granuleuse est produite par des grains disséminés, par des grains arrangés en séries, par des fibres élastiques moniliformes, évidemment constituées par des granulations soudées les unes aux autres, et par des fibres élastiques à bords rectilignes et parallèles.

Dans les coupes du cartilage aryténoïde d'un jeune chien, faites après l'action de l'acide osmique, on observe des capsules autour desquelles il y a une zone granuleuse formée de grains extrêmement fins, tandis qu'à leur intérieur, à la surface de la cellule, se montre une couche de grains plus gros (*g*, fig. 159). Il est difficile de savoir quelle relation il y a entre les grains formés à l'intérieur de la capsule et ceux qui se développent à son pourtour.

Les fibres élastiques nées dans le cartilage, poursuivant leur développement, arrivent au périchondre, le traversent et viennent se confondre avec le réseau élastique du tissu conjonctif voisin. Des coupes transversales de l'épiglotte du chien, faites après durcissement par l'alcool et colorées ensuite au picrocarminate (fig. 160), montrent des îlots de cartilage élastique, séparés les uns des autres par du tissu cellulo-adipeux. Comme, dans ces prépa-

1. *Henle*. Traité d'anatomie générale. Traduction française, 1843, t. I, p. 437.
2. *Donders*, Zeitschrift f. wissenschaftliche Zoologie, III, 1851, p. 334.
3. *H. Müller*, Würzburger Verhandl. Vol. X, p. 132.

rations, les fibres élastiques sont colorées en jaune par l'acide picrique, il est facile de les suivre : elles partent en rayonnant des petits îlots de cartilage et s'étendent dans le tissu cellulo-adipeux où elles s'anastomosent, puis, gagnant le périchondre, elles le traversent et viennent concourir à la formation du réseau de la muqueuse épiglottique[1].

L'observation du développement des fibres élastiques dans la gaîne lamelleuse des nerfs n'est pas moins instructive. Elle a même cet avantage sur la précédente que, la substance élastique se produisant dans une membrane extrêmement mince et seulement dans le plan de celle-ci, il est impossible de prendre pour un grain élastique la coupe transversale d'une fibre. Nous avons déjà parlé (p. 322) de la manière de préparer la gaîne lamelleuse des nerfs pour y observer les éléments élastiques qu'elle contient.



Fig. 159. — Coupe transversale du cartilage aryténoïde du chien adulte, faite après macération dans une solution d'acide osmique à 1 pour 300. — *s*, substance fondamentale, avec des grains élastiques; *n*, noyau; *r*, granulations graisseuses du protoplasma colorées en noir par l'osmium; *g*, granulations à la surface du protoplsma. — 300 diam.

Les grains, les fibres et les plaques élastiques de la gaîne des faisceaux nerveux n'existent pas chez les jeunes animaux. Ils ne se développent que chez les adultes et sur les gros faisceaux nerveux, par exemple le pneumo-gastrique ou le sciatique du chien. Ce développement tardif est un des caractères du tissu élastique qui, à ce point de vue, peut être placé à côté du tissu osseux, comme on le verra plus loin.

Les plaques élastiques sont disséminées d'une manière irrégulière dans la couche interne de la gaîne lamelleuse; elles sont entourées chacune d'une zone plus ou moins étendue, formée de granulations élastiques dont le nombre et le volume diminuent à mesure que l'on s'éloigne de la plaque (voy. fig. 156). Quelques-unes de ces granulations ont un volume relativement considérable. Au bord de la plaque, elles se disposent en réseaux et forment des fibres à bords rectilignes. Comme dans le cartilage élastique, on

1. Les conceptions doctrinales de M. Schultze ont engendré un travail sur le développement des fibres élastiques, dans lequel l'auteur (*Oscar Hertwig*. Archives de M. Schultze, 1873, p. 80) cherche à démontrer que ces fibres naissent dans le cartilage aux dépens du protoplasma des cellules. Il s'appuie sur un travail de Bubnoff, d'après lequel il serait démontré que les capsules de cartilage sont perforées pour donner naissance à de fins canaux anastomotiques. En suivant exactement la méthode de Bubnoff (voy. p. 243), nous n'avons jamais pu réussir, bien que nous ayons répété cette observation sur plusieurs espèces de cartilages, à voir les canaux qui sillonneraient la substance fondamentale. Nous avons repris aussi les observations de Hertwig sur l'oreille des mammifères nouveau-nés, et nous n'avons jamais pu observer nettement la continuité des fibres élastiques naissantes avec le protoplasma des cellules cartilagineuses. Par contre, nos propres observations sur le cartilage aryténoïde de l'homme et du chien et sur la gaîne lamelleuse des nerfs corroborent l'opinion de H. Müller sur le développement des fibres élastiques.

peut donc suivre, dans la gaîne lamelleuse des faisceaux nerveux, la formation des fibres élastiques par juxtaposition et soudure de grains. Dans les deux tissus, on voit le développement de la substance élastique se faire en rayonnant à partir de certains points qui semblent être des centres de formation[1].

Développement des cellules adipeuses. — Si, chez un lapin qui vient de naître, on détache la peau qui recouvre le dos et la nuque, le tissu adipeux apparaît, de chaque côté de la colonne vertébrale, sous forme de deux masses absolument semblables, bien limitées, ayant une apparence glandulaire. En dehors de ces masses, le tissu conjonctif diffus voisin ne contient pas de lobules adipeux.

Cette première observation peut déjà nous suggérer une hypothèse sur le développement du tissu adipeux, à savoir que toutes les parties du tissu cellulaire sous-cutané ne sont pas également aptes à produire des cellules adipeuses, et que très probablement les cellules ordinaires du tissu conjonctif ne concourent pas directement à leur formation.



Fig. 160. — Coupe transversale de l'épiglotte du chien, faite après durcissement par l'alcool, colorée par le picrocarminate et conservée dans la glycérine. — *a*, cellules adipeuses; *c*, tissu conjonctif diffus; *e*, fibres élastiques; *i*, couches superficielles du cartilage avec petites cellules; *r*, portion centrale avec de grandes capsules, *l*, et une substance fondamentale contenant des fibres et des grains élastiques; *f*, faisceaux du tissu conjonctif coupés en travers. — 170 diam.

Chez des embryons de bœuf ayant moins de 15 centimètres de longueur, il n'y a pas encore de cellules adipeuses dans le tissu cellulaire sous-cutané. Chez les embryons du même animal, longs de 50 à 55 centimètres, on observe à l'œil nu, dans le tissu cellulaire sous-cutané, de petits grains arrondis, un peu opalins, qui tranchent sur le tissu conjonctif embryonnaire alors très transparent. Si, avec des ciseaux courbes, on enlève de petits fragments de ce tissu et qu'on les recouvre d'une lamelle sans y ajouter aucun réactif, on voit que les îlots adipeux sont appendus aux vaisseaux sanguins.

Les groupes de cellules adipeuses ne sont pas également chargés de graisse. On en rencontre même où presque toutes les cellules en sont encore dépourvues. Ces cellules, à un grossissement de 400 à 500 diamètres, apparaissent sous la forme de masses globuleuses de protoplasma dans l'intérieur desquelles se trouvent un ou plusieurs noyaux ovalaires.

1. *Recherches sur l'histologie et la physiologie des nerfs*, Archives de physiologie, 1872 p. 428.

La graisse apparaît, dans le protoplasma de ces cellules, sous forme de granulations. En grossissant, ces granulations arrivent à se toucher et à se confondre en une gouttelette qui occupe le centre de la cellule. Le noyau et le protoplasma sont refoulés à la périphérie et constituent autour de la goutte de graisse une enveloppe qui, sur la coupe optique, apparaît comme un anneau, en un point duquel le noyau se montre comme le chaton d'une bague (*a* fig. 162). Dans le protoplasma refoulé à la périphérie, se produisent de nouvelles granulations graisseuses *g*, qui semblent destinées à gagner la masse centrale et à se fondre avec elle. Pour bien étudier ce tissu, il convient de le préparer à l'aide des injections interstitielles d'acide osmique. Dans chaque cellule, la goutte de graisse centrale apparaît alors comme une sphère



Fig. 161. — Tissu cellulo-adipeux de l'aisselle d'un embryon de bœuf de 35 centimètres de longueur. *v*, vaisseau sanguin; *m*, tissu conjonctif embryonnaire; *a*, îlot adipeux; *c*, cellule adipeuse isolée au voisinage d'un îlot. — 50 diam.

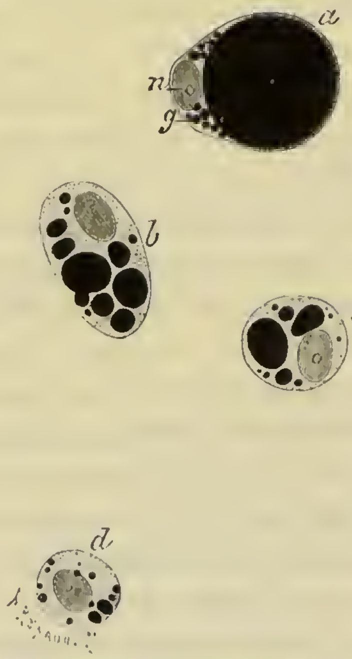


Fig. 162. — Cellules adipeuses du tissu conjonctif sous-cutané d'un embryon de bœuf de 15 centimètres, après injection interstitielle d'acide osmique. Conservation dans la glycérine. — *a*, cellule adipeuse presque complètement développée, dans laquelle on voit une boule de graisse colorée en noir par l'osmium, un noyau *n* et des granulations graisseuses *g* dans la masse de protoplasma qui l'entoure; *d*, cellule adipeuse au début de la formation de la graisse; *b* et *c*, deux cellules présentant les stades intermédiaires du développement. — 550 diam.

colorée en noir brun, tandis que les granulations éparses dans le protoplasma sont moins fortement colorées.

Les cellules adipeuses, lors de la formation de la graisse dans leur intérieur, ne présentent pas toujours les dispositions que nous avons observées dans le tissu conjonctif sous-cutané des embryons de bœuf. Si, par exemple, nous prenons le mésentère d'un jeune rat et qu'après l'avoir régulièrement étendu sur une lame de verre nous y ajoutions du picrocarminate à 1 pour 100, nous remarquerons, le long des vaisseaux mésentériqu.s, des cellules

adipeuses complètement constituées. A côté de celles-ci, se trouvent des cellules rondes dépourvues de graisse ou contenant seulement quelques granulations graisseuses. Entre ces dernières et les cellules adipeuses complètement développées, on observe une série de formes intermédiaires.

Quelques-unes de ces cellules contiennent seulement de fines granulations disposées à leur périphérie, tandis que leur centre est occupé par une masse de protoplasma et un, deux ou trois noyaux. Les granulations graisseuses marginales augmentent de volume et arrivent en confluant à constituer des gouttelettes. Le protoplasma et les noyaux, contrairement à ce que l'on observe dans le tissu conjonctif sous-cutané, restent longtemps au centre des cellules. C'est seulement à une période plus avancée du développement que, par un phénomène de transposition dont nous observerons d'autres exemples, en particulier dans les muscles, le protoplasma et les noyaux sont portés à la périphérie de la cellule et la goutte de graisse à son centre. Quel que soit le mode de développement de la cellule adipeuse, c'est seulement lorsque le noyau et le protoplasma ont été refoulés à la périphérie que s'y forme la membrane caractéristique. Cette membrane peut être considérée comme une production secondaire périphérique de la cellule, et à ce point de vue elle est l'analogue d'une capsule de cartilage.

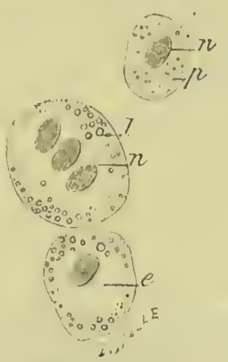


Fig. 165. — Cellules adipeuses du mésentère du rat, peu de temps après la naissance. Coloration au picrocarminate. — *n*, noyau; *p*, protoplasma; *l*, granulations graisseuses; *e*, région du protoplasma autour du noyau dépourvue de granulations graisseuses.

Le tissu adipeux ne résulte pas d'un simple dépôt de graisse dans les cellules fixes du tissu conjonctif. Les cellules adipeuses sont, à l'origine, des cellules spéciales; elles apparaissent le long des vaisseaux sanguins. Il ne faudrait pas soutenir cependant que des matières grasses ne peuvent pas être élaborées ultérieurement dans les cellules plates du tissu conjonctif, d'autant plus que la fonction de produire de la graisse appartient à un très grand nombre d'éléments cellulaires, les cellules du cartilage et les cellules du foie, par exemple. Ces éléments peuvent être considérés comme supplémentaires des cellules adipeuses proprement dites.

Il n'en reste pas moins établi que, dans le développement physiologique du tissu conjonctif, la graisse se forme dans des cellules spéciales qui agissent pour la produire comme des éléments glandulaires, de sorte qu'une cellule adipeuse est en réalité une glande unicellulaire.

Développement du tissu conjonctif dans son ensemble. — Le tissu conjonctif se développe tout entier aux dépens du feuillet moyen du blastoderme. Aussi peut-on, avec une certaine logique, considérer comme du tissu conjonctif la masse cellulaire qui constitue ce feuillet à son origine. Plus tard, à une époque qui varie suivant les espèces animales, les cellules du feuillet moyen concourent à la formation du tissu conjonctif, des cartilages, des os, des vaisseaux, des muscles et de certains parenchymes. Lorsqu'il apparaît en masse distincte, le tissu conjonctif se montre formé entièrement de

cellules dont les unes, conservant le caractère embryonnaire, sont petites, rondes ou irrégulièrement globuleuses, tandis que les autres grossissent, changent de forme, s'aplatissent ou s'étirent en fuseaux et donnent naissance à des prolongements ramifiés et anastomotiques. Entre ces divers éléments cellulaires, est répandue une substance liquide qui donne au tissu l'apparence gélatineuse ou muqueuse. C'est dans cette substance intercellulaire que se montrent les premières fibres du tissu conjonctif. A leur origine, elles sont extrêmement minces, possèdent une longueur indéterminée et n'ont avec les cellules et leurs prolongements que des rapports de contiguïté. Les cellules adipeuses se forment ensuite, principalement aux dépens des petites cellules arrondies. Les fibres élastiques ont un développement encore plus tardif; il se poursuit après la naissance et même dans l'âge adulte. Ces fibres, pas plus que les faisceaux connectifs, ne se produisent aux dépens des prolongements protoplasmiques des cellules. Elles apparaissent dans la substance intercellulaire.

Quelle que soit celle des variétés de tissu conjonctif que l'on considère, les faisceaux connectifs, depuis leur apparition jusqu'à leur complet développement, sont absolument distincts des cellules, et jamais on ne trouve de cellules dans leur intérieur; toujours elles sont disposées à leur surface. Mais tantôt elles s'enroulent autour d'eux, tantôt elles en recouvrent qui sont groupés pour former des faisceaux plus volumineux ou des membranes. Dans ce dernier cas, comme il arrive dans le mésentère du lapin et dans la gaine lamelleuse des nerfs par exemple, les cellules connectives sont disposées à la surface de la membrane et lui forment un revêtement plus ou moins complet.

Les conclusions que nous venons de présenter sur le développement du tissu conjonctif, bien que fondées sur une série d'observations dont le détail a été donné plus haut, peuvent encore prêter matière à la discussion. Mais les arguments que l'on pourrait produire contre notre manière de voir doivent, ce nous semble, tomber, si l'on étudie l'accroissement des faisceaux du tissu conjonctif, en se plaçant dans de bonnes conditions.

On a pu voir plus haut (p. 302) que les portions les plus minces du mésentère du lapin adulte ne contiennent pas d'autres éléments cellulaires que les cellules endothéliales de sa surface et les cellules plates sous-jacentes. Chez le lapin nouveau-né, le mésentère a la même structure.

Or, les plus gros faisceaux connectifs qui se trouvent dans l'épaisseur de la membrane ont chez le lapin nouveau-né 2 μ, tandis que chez l'adulte ils atteignent 12 μ. Leur diamètre a donc augmenté dans la proportion de 1 à 6. Cet accroissement ne peut pas être considéré comme le produit d'une transformation du protoplasma cellulaire, puisque, pendant la période de croissance, comme après le développement achevé, il n'y a pas de rapport de forme entre les faisceaux conjonctifs et les cellules. Ceux-ci sont cylindriques, ont une grande longueur et se poursuivent même dans toute l'étendue du mésentère tandis que les cellules sont petites, plates et n'ont avec les faisceaux que des rapports limités.

Du reste, il suffit d'un simple lavage avec le pinceau pour enlever toutes les cellules des portions les plus minces du mésentère, ce qui démontre, ainsi que nous l'avons dit, qu'elles sont toutes disposées à leur surface.

TISSU MUQUEUX

On vient de voir que le tissu conjonctif en voie de formation contient dans ses mailles une substance liquide, alors que les faisceaux du tissu conjonctif ne sont pas encore formés ou qu'ils sont peu nombreux et très minces. Chez les mammifères, il y a certaines parties du corps où le développement s'arrête à cette période. Le tissu muqueux de Virchow n'est pas autre chose. Il con-



Fig. 164. — Tissu muqueux du cordon ombilical d'un embryon de mouton. — *c*, cellules ramifiées; *n*, cellules embryonnaires ou lymphatiques; *F*, faisceaux de tissu conjonctif; *B*, substance amorphe. — 500 diam.

stitue le cordon ombilical et le corps vitré. Chez un grand nombre d'animaux, les plagiostomes, par exemple, du tissu muqueux, persistant pendant toute la durée de la vie, se rencontre dans des régions plus étendues. Au voisinage des cartilages de la tête, il existe chez ces animaux une masse de tissu muqueux. Pour en faire des préparations, on en prend avec des ciseaux de petits fragments que l'on colore avec l'iode ou le picrocarminate. Au milieu d'une substance amorphe, presque liquide, se colorant faiblement par ces réactifs, se voient de grandes cellules à protoplasma granuleux, munies de nombreux prolongements ramifiés qui s'anastomosent avec les prolongements des cellules voisines, de manière à former un réseau. A côté de ces cellules, de petits faisceaux de tissu conjonctif rectilignes ou légèrement sinueux par-

courent la préparation dans toute son étendue. Il y a une indépendance complète du réseau cellulaire et des faisceaux connectifs. Le nombre de ces faisceaux est très variable, et l'on trouve même des régions étendues où ils manquent complètement[1].

Pour étudier le tissu muqueux du cordon ombilical, les anciens histologistes le faisaient sécher et y pratiquaient des coupes qu'ils mettaient dans l'eau et qu'ils traitaient par l'acide acétique. Cette méthode est bien grossière pour un tissu aussi délicat, aussi n'a-t-elle pas fourni des notions bien exactes sur sa structure. Pour se rendre compte de la constitution de ce tissu, il faut y faire des injections interstitielles de sérum iodé. Les préparations diffèrent suivant l'âge de l'embryon.

Chez des embryons humains de trois mois à cinq mois, le tissu muqueux du cordon ombilical présente à peu près les mêmes caractères que le tissu muqueux des poissons; on y observe des cellules lymphatiques, de grandes cellules ramifiées et anastomosées et des faisceaux du tissu conjonctif minces et rectilignes. Chez les nouveau-nés, la trame connective s'est développée; elle est constituée par des faisceaux isolés ou groupés de façon à limiter des aréoles, et les cellules devenues plates sont généralement appliquées à leur surface, tandis que dans le liquide interfasciculaire nagent des cellules lymphatiques[2].

Le corps vitré des mammifères adultes se rapproche du tissu muqueux par sa consistance; mais il n'en a pas la structure, car on n'y trouve que quelques cellules arrondies.

CLASSIFICATION DES DIFFÉRENTES FORMES DU TISSU CONJONCTIF

L'étude que nous venons de faire d'un certain nombre d'organes formés de tissu conjonctif et du développement de ce tissu nous permet d'en essayer une classification méthodique.

A son origine, le tissu conjonctif est constitué entièrement par des cellules. C'est là le tissu conjonctif embryonnaire ou *tissu embryonnaire* proprement dit. A une période plus avancée du développement, il se produit entre les cellules une substance intercellulaire liquide plus ou moins abondante; la formation des fibres est encore rudimentaire. Tel est le tissu conjonctif muqueux ou *tissu muqueux*. Quant au tissu conjonctif adulte, il se présente sous des formes très variées. Constitué par des faisceaux connectifs entrecroisés suivant toutes les directions, disposé en masses plus ou moins con-

1. Il y a une grande analogie entre le tissu muqueux et le cartilage à cellules ramifiées des céphalopodes; la substance intercellulaire seule diffère. Parmi les tumeurs observées chez l'homme, il en est quelques-unes qui sont formées du tissu muqueux et que l'on désigne sous le nom de myxomes. L'analogie qui existe entre ce tissu et le tissu cartilagineux à cellules ramifiées a certainement frappé tous les anatomo-pathologistes qui ont fait une étude des tumeurs de la glande parotide. Parmi ces tumeurs, il en est qui présentent, à côté de masses formées par du cartilage à cellules ramifiées, des parties dont la constitution histologique est semblable à celle du tissu muqueux.

2. Voy. *J. Renaut*, Du tissu muqueux du cordon ombilical. *Archives de physiologie*, 1872, t. VII, p. 219.

sidérables, sans forme spéciale, comblant des cavités ou des interstices, c'est le *tissu conjonctif diffus*, que Reichert a appelé tissu conjonctif sans forme, par opposition à celui qui produit des organes d'une forme déterminée, par exemple les membranes ou les tendons, et que nous désignons sous le nom de tissu conjonctif modelé. Le *tissu conjonctif membraneux* est celui dans lequel les différents faisceaux sont disposés de manière à figurer une membrane, comme le mésentère, le ligament suspenseur du foie, etc. A côté de ce dernier se placent le *tissu conjonctif lamelleux* ou engainant (gaine des faisceaux nerveux); le tissu conjonctif *rétiforme*, dans lequel les faisceaux se séparent et se réunissent tour à tour pour intercepter des mailles (épiploon, repli mésopéricardique, tissu sous-arachnoïdien); le tissu conjonctif *réticulé*, qui ne diffère du précédent que par la finesse très grande de ces faisceaux (ganglions lymphatiques); le *tissu conjonctif adipeux*, caractérisé par la présence des cellules adipeuses entre les faisceaux du tissu conjonctif diffus; le *tissu conjonctif tendineux* et *ligamenteux*, distingué par l'ordonnance parallèle des faisceaux; enfin, le *tissu conjonctif élastique*, dans lequel prédominent les fibres et les réseaux élastiques (ligament cervical postérieur, par exemple).

Cette classification n'est pas complète, parce qu'elle ne donne que les types les plus accusés, et entre eux il y a de nombreux intermédiaires. C'est ainsi que le tissu conjonctif diffus contient un nombre plus ou moins considérable de cellules adipeuses et de fibres élastiques. De même, dans le centre phrénique, membrane tendineuse, nous voyons des faisceaux tendineux partir d'un des petits tendons pour aller se confondre avec un tendon voisin, en interceptant des mailles comparables à celles du grand épiploon, etc.

Les limites mêmes de l'ensemble des tissus conjonctifs ou, pour employer le langage de Bichat, du système conjonctif ne sont pas toujours tranchées. Nous avons fait remarquer l'analogie qu'il y a entre le tissu muqueux et le tissu cartilagineux à cellules ramifiées. D'autre part, nous avons vu quel rapport étroit il y a entre les tendons et le cartilage, puisque non seulement les faisceaux de tissu conjonctif du tendon se continuent avec la substance fondamentale du cartilage, mais encore les cellules placées entre les faisceaux tendineux peuvent être contenues dans des capsules. Nous allons trouver bientôt, en étudiant le développement du tissu osseux, un rapport tout aussi intime de ce dernier tissu avec le tissu conjonctif.

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES SUR LE TISSU CONJONCTIF

Le tissu conjonctif est répandu dans toute la masse du corps. Son importance est considérable par la place qu'il y occupe et par son rôle physiologique. Ce rôle est double et doit être considéré au point de vue mécanique et au point de vue de la nutrition.

Au point de vue mécanique, ce tissu, comme Bichat l'a si bien exposé, soutient les organes, les entoure en leur formant une sorte de capsule et, pénétrant dans leur intérieur, il leur constitue une charpente solide. Pour les

protéger, il forme aux vaisseaux et aux nerfs une gaine qui les accompagne jusque dans leurs dernières ramifications. Sous forme de ligaments, il maintient en contact les surfaces articulaires; sous celle de tendons, il permet aux muscles d'agir sur les leviers osseux dans des points bien limités.

Les tendons et les ligaments, aussi bien que le périoste, autre membrane fibreuse, sont en continuité avec le squelette, et ils en sont pour ainsi dire des parties constituantes, comme il ressortira de l'étude du développement du tissu osseux. Les autres parties du tissu conjonctif sont surtout destinées à la protection, soit du corps tout entier, soit des organes. Ces derniers, s'ils étaient réduits à leurs éléments anatomiques essentiels, si le tissu conjonctif ne venait se mêler à ces éléments pour en régler l'ordonnance et placer entre eux des parties plus solides, auraient le plus souvent une mollesse telle que le moindre choc viendrait les troubler et compromettre la vie.

Au point de vue de la nutrition générale, le tissu conjonctif a une importance de premier ordre, surtout si l'on considère cette partie du système conjonctif qui n'appartient pas spécialement au squelette. Les fibres et les membranes dont il est formé constituent un système continu à lui-même dans tout l'organisme, en sillonnant et en cloisonnant en divers sens un vaste réservoir dont toutes les cavités communiquent entre elles. En font partie aussi bien les grandes cavités séreuses que les interstices du tissu conjonctif diffus. Ce réservoir appartient au système lymphatique, et dans toutes ses parties il contient les éléments de la lymphe. La communication directe des grandes cavités séreuses avec les vaisseaux lymphatiques est un fait définitivement acquis à la science. On discute encore aujourd'hui sur l'origine des vaisseaux lymphatiques dans les mailles du tissu conjonctif diffus, mais à propos du système lymphatique nous exposerons des faits qui tendent à prouver qu'ils prennent réellement leur origine dans les interstices de ce tissu.

Il y a de la lymphe dans toutes les mailles du tissu conjonctif, et comme ce tissu pénètre dans l'épaisseur de tous les organes pour en séparer les éléments (faisceaux primitifs des muscles, tubes nerveux) ou des groupes d'éléments (culs-de-sac glandulaires), il en résulte que ces éléments ou ces groupes d'éléments sont placés pour ainsi dire dans un sac lymphatique, de même que l'intestin et la rate dans la cavité péritonéale. Mis ainsi en rapport direct avec la lymphe, les éléments des organes y puisent les matériaux de leur nutrition et y déversent le résidu de leur travail. Ainsi se trouve bien établi ce que nous disions à propos de la lymphe : elle est le véritable milieu liquide dans lequel vivent les organes.

C'est à la lymphe des parenchymes organiques que le sang abandonne son oxygène, et c'est par son intermédiaire qu'il arrive aux éléments qui doivent l'utiliser. Il en résulte que la lymphe contenue dans les mailles du tissu conjonctif est très oxygénée, contrairement à la lymphe qui circule dans les gros canaux (voy. p. 145). Or nous avons vu que les cellules lymphatiques ont des manifestations vitales d'autant plus actives que, toutes choses égales d'ailleurs, elles se trouvent placées dans un milieu plus riche

en oxygène. Il est donc logique de supposer que les cellules lymphatiques, situées dans les mailles conjonctives, y jouissent des conditions les plus favorables pour s'y multiplier par division. Le tissu conjonctif jouerait ainsi un rôle important dans l'élaboration des éléments cellulaires de la lymphe[1].

Considérons maintenant le tissu adipeux et rappelons qu'il peut emmagasiner une quantité considérable de matières grasses pour les rendre à mesure que l'organisme en a besoin pour sa nutrition générale. Ces matières grasses, qui paraissent être élaborées dans des cellules spéciales du tissu conjonctif, sont-elles fabriquées dans ces cellules aux dépens du matériel banal apporté par le sang, ou bien la graisse absorbée dans les voies digestives ou formée dans quelque autre organe, le foie par exemple, est-elle simplement mise en dépôt dans ces cellules? Nous manquons d'expériences directes pour répondre à ces questions, mais il n'en reste pas moins aux cellules adipeuses un rôle très important dans la fonction stéatogénique considérée d'une manière générale.

Au point de vue pathologique, le tissu conjonctif est le tissu le plus important de l'organisme; c'est lui qui est le plus souvent le siège des néoplasmes, inflammatoires ou autres, comme Bichat l'a établi. Mais cette conception perdrait de sa généralité si l'on voulait restreindre la signification du tissu conjonctif. En effet, une maille du tissu cellulaire, une cavité séreuse, un ganglion lymphatique, une aréole du tissu osseux, une vésicule pulmonaire, un vaisseau lymphatique, sont des équivalents au point de vue des altérations inflammatoires et des néoplasmes qui constituent les tumeurs. Un vaisseau sanguin même peut se comporter de la même façon qu'une maille du tissu conjonctif, et c'est ce qui arriverait plus fréquemment si le cours du sang ne venait entraver le processus. Aussi suffit-il que la circulation soit arrêtée dans une artère, et que le sang s'y soit coagulé pour que l'on voie bourgeonner sa tunique interne absolument comme le ferait du tissu conjonctif diffus.

CHAPITRE VII

DÉVELOPPEMENT DU TISSU OSSEUX

La plupart des os du squelette sont précédés de pièces cartilagineuses qui

1. Tous les faits que nous avons exposés relativement à la structure du tissu conjonctif sont en opposition directe avec la théorie de Virchow sur la circulation des sucs dans des cellules connectives qui seraient creuses et munies de prolongements anastomotiques. Ils contredisent également la conception de Recklinghausen, qui présente avec celle de Virchow une très grande analogie. Recklinghausen supposait l'existence de canalicules (*Saftkanälchen*) parcourant en tous sens le tissu conjonctif et chargés d'y transporter les sucs nutritifs. Nous renvoyons au chapitre spécial destiné aux vaisseaux lymphatiques l'étude et la critique des observations sur lesquelles il avait fondé cette théorie, qui n'est du reste plus soutenable aujourd'hui.

possèdent la même forme qu'aura ensuite l'os adulte. Le tissu osseux ne s'y développe que plus tard, prenant en partie la place du cartilage lui-même auquel il se substitue, et en partie l'enveloppant de couches périphériques qui en augmentent les dimensions sans en altérer la forme.

Certains os, ceux de la voûte du crâne par exemple, ne sont pas précédés de cartilage et se développent entièrement aux dépens d'un tissu fibreux. Nous ne pouvions donc aborder l'étude de leur formation qu'après avoir fait l'histoire du tissu conjonctif. Nous étudierons d'abord le mode de développement et d'accroissement des os longs. En second lieu nous parlerons des os qui prennent naissance dans le tissu fibreux. Lorsque nous aurons exposé les différents procédés dont il faut se servir dans cette étude et les résultats que fournit chacun d'eux, nous résumerons en quelques mots l'histoire de ce développement.

DÉVELOPPEMENT DES OS LONGS

Le développement des os longs doit être étudié au moyen de coupes pratiquées dans les os d'embryons ou d'animaux en voie de croissance. Pour obtenir ces coupes, il est nécessaire de placer d'abord les os dans des réactifs divers qui tous doivent agir en dissolvant les sels calcaires, tout en conservant la forme des parties molles aux dépens desquelles se forme le tissu osseux.

Le procédé de décalcification le plus usité consiste à plonger les os dans une solution d'acide chromique, de 2 à 4 pour 1000. Un os long d'embryon très jeune, placé dans 100 à 200 centimètres cubes de ce réactif, y est complètement décalcifié au bout de quelques jours. Mais, si cet os est plus volumineux, comme le fémur, le tibia, l'humérus d'un enfant nouveau-né, la solution d'acide chromique devient insuffisante, et quand bien même on l'a renouvelée plusieurs fois, l'os n'est pas encore décalcifié dans toute sa masse. Du reste, pour étudier le développement du tissu osseux, un os entier n'est pas nécessaire; il suffit du cartilage d'ossification avec la petite portion du tissu osseux qui lui fait suite. On divisera donc, au moyen de la scie, l'extrémité d'un os long, et celle-ci placée dans la solution chromique sera décalcifiée au bout de peu de jours, surtout si l'on a soin de la renouveler plusieurs fois.

Un os complètement décalcifié peut être coupé avec le rasoir, mais la différence de consistance des diverses parties qui le composent rend très difficile d'y faire des coupes minces et égales. Pour éviter cette difficulté, il faut, à sa sortie de la solution d'acide chromique, laisser la pièce vingt-quatre ou quarante-huit heures dans l'eau, puis la mettre dans l'alcool; la différence de consistance entre les divers tissus diminue, et les coupes sont plus faciles à faire. Il est essentiel de laisser dégorger la pièce dans l'eau avant de la mettre dans l'alcool, autrement il s'y produirait un précipité chromique granuleux.

Une autre méthode consiste à placer le fragment d'os d'abord dans l'alcool

absolu pour en fixer les éléments, puis dans une solution concentrée d'acide picrique qui le décalcifie et qui a sur l'acide chromique l'avantage de ne pas donner de précipité avec l'alcool Ensuite la pièce est mise dans une solution de gomme arabique pendant vingt-quatre heures et enfin dans l'alcool. Les coupes sont laissées vingt-quatre heures dans l'eau pour les débarrasser de la gomme.

Lorsque ces coupes ont été pratiquées après décalcification du tissu, soit par l'acide chromique, soit par l'acide picrique, on les soumet d'habitude à la coloration par le carmin ou par le picrocarminate, et c'est alors seulement qu'on voit que les préparations faites au moyen de l'acide picrique sont supérieures, parce que les cellules et les noyaux, qu'il importe à un haut degré de suivre dans leurs diverses modifications, se colorent très bien, tandis que, dans les préparations faites au moyen de l'acide chromique, ils se colorent mal ou pas du tout. Cependant ces dernières préparations ont des qualités remarquables, en ce sens que la substance intercellulaire du cartilage d'ossification et les jeunes travées osseuses, tannées pour ainsi dire par le réactif, possèdent des formes plus accusées.

Aussi la purpurine qui, après l'action de l'acide chromique, colore bien les différentes cellules que l'on trouve soit dans le cartilage, soit dans l'os en voie de développement, est-elle un réactif précieux. L'emploi de cette matière colorante entre pour une part dans le mode de préparation qui m'a donné les résultats les plus nets et que je vais décrire maintenant.

Un os long d'un embryon humain de 3 à 5 mois ou un os court d'un petit animal en voie de croissance, d'un jeune lapin ou d'un chien nouveau-né, est placé d'abord dans une solution de bichromate d'ammoniaque pendant une semaine, puis dans une solution abondante d'acide chromique à 2 pour 1000. Lorsqu'il est décalcifié complètement, il est laissé pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans de l'eau que l'on renouvelle plusieurs fois; puis, quand il a abandonné presque tout l'acide chromique qu'il contenait dans son tissu, on le met pendant trois ou quatre jours dans une solution de gomme ayant la consistance d'un sirop peu épais. Finalement, il est porté dans l'alcool, qui lui donne au bout de vingt-quatre ou trente-six heures une excellente consistance. Les coupes, faites au rasoir à main libre ou au microtome, laissées pendant vingt-quatre heures dans de l'eau distillée pour dissoudre la gomme, sont colorées ensuite par un séjour de vingt-quatre ou quarante-huit heures dans la solution de purpurine préparée comme il a été dit page 95.

Toute cette manipulation est un peu longue, encore avons-nous omis de dire que, pour obtenir des préparations vraiment démonstratives, il est nécessaire d'y soumettre des pièces dont les vaisseaux ont été préalablement injectés de bleu de Prusse soluble additionné de gélatine (voy. p. 107). Mais on sera récompensé par la bonne qualité des préparations et la possibilité d'y reconnaître certains détails de structure qui échappent sur les autres.

Pour avoir une idée générale du développement d'un os long, examinons

une coupe longitudinale d'un de ces os, pris chez un très jeune embryon, faite à l'aide d'une des méthodes que nous venons d'indiquer. Si cette coupe passe par l'axe de l'os et comprend le cartilage épiphysaire, le périoste et l'os proprement dit, on y distingue, à l'œil nu ou à un faible grossissement, deux parties bien différentes l'une de l'autre. La partie centrale *m* (fig. 165) a la forme de deux triangles opposés par le sommet et dont les bases sont à chacune des extrémités du cylindre osseux; la partie externe *m'* s'étend de là jusqu'au périoste. Ces deux couches sont bien distinctes l'une de l'autre par leur origine et leur structure. L'une correspond à l'os cartilagineux, l'autre à l'os périostique. A cette période, l'os tout entier pourrait être représenté par le schéma suivant : un sablier, figurant l'os cartilagineux placé debout dans un vase cylindrique qui représenterait le périoste. L'espace compris entre les deux correspond à l'os périostique.

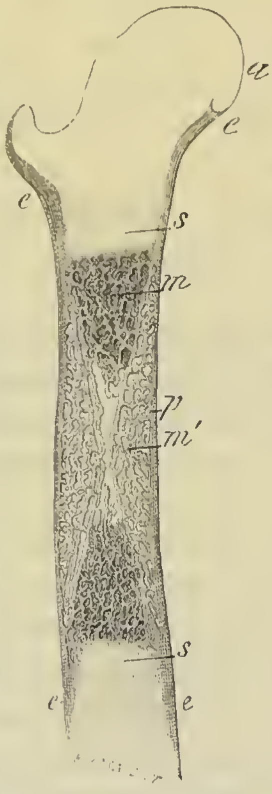


Fig. 165. — Coupe longitudinale de l'humérus d'un embryon de chien, faite après décalcification par l'acide picrique et durcissement par la gomme et l'alcool. Coloration avec le picrocarminate. — *a*, tête cartilagineuse de l'os; *m*, os cartilagineux; *m'*, os périostique; *e*, encoches d'ossification; *s*, cartilage sérié; *p*, périoste. — 7 diam.

L'os cartilagineux se termine nettement, par une ligne droite ou légèrement sinueuse *s*, la ligne d'ossification. Aux deux extrémités de cette ligne, l'os empiète sur le cartilage et y est compris de chaque côté dans une encoche que nous avons décrite sous le nom d'*encoche d'ossification*[1].

Cette encoche correspond évidemment à un sillon circulaire qui serait creusé autour du cartilage épiphysaire. Nous verrons bientôt qu'elle joue un rôle important dans l'ossification.

Nous allons maintenant revenir avec plus de détails sur chacune des parties que nous venons d'indiquer. Nous étudierons successivement la ligne d'ossification et le processus de formation de l'os cartilagineux, puis l'encoche d'ossification et le développement de l'os périostique.

Os cartilagineux. — L'os en voie de développement (fig. 165) que nous avons pris d'abord pour type ne représente pas le premier stade du développement du tissu osseux. Pour étudier l'apparition du premier point d'ossification, il faut prendre chez un embryon un os cartilagineux dans lequel les vaisseaux n'aient pas encore pénétré et qui présente seulement à son centre une tache blanche opaque. Comme tous les os ne sont pas à la fois à la même période de leur développement, on peut en trouver à ce premier stade chez un embryon dont les os longs sont assez développés pour fournir une préparation comme celle qui est représentée figure 166. Une coupe, faite avec un scalpel ou un rasoir à tranchant solide, au niveau d'un point d'ossification tout à fait à son début,

1 Comptes rendus de l'Acad. des sc., 10 novembre 1875.

permet de constater à l'examen microscopique qu'il consiste en un dépôt calcaire autour des capsules de cartilage. Les sels calcaires des os étant attaqués et dissous par l'acide chlorhydrique, on pourrait se servir de cet acide pour ramollir le point d'ossification et y faire ensuite des coupes à l'aide du rasoir : mais les préparations obtenues ainsi ne sont pas nettes. Un procédé bien meilleur consiste à mettre l'os tout entier dans 150 à 200 centimètres cubes d'une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. Au bout de deux jours, la décalcification étant produite, on y fait des coupes qui comprennent le cartilage et son point d'ossification. Ces coupes présentent, dans la partie qui était infiltrée de sels calcaires et qui maintenant est décalcifiée, de grandes capsules remplies exactement par les cellules qui les occupent. Ces cellules contiennent chacune un noyau vésiculeux (fig. 167).

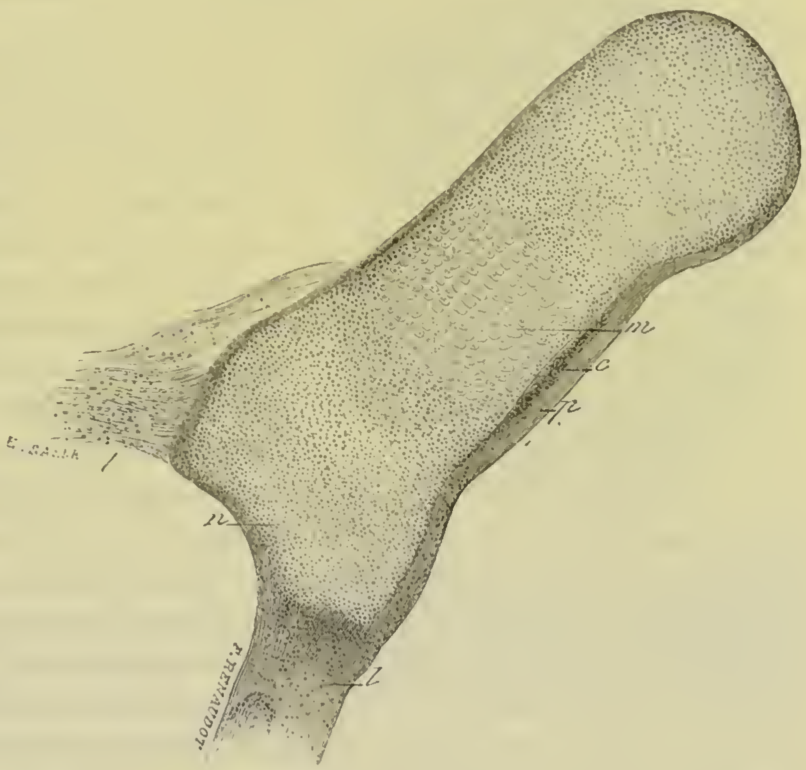


Fig. 166. — Métacarpien d'un embryon de chien. Coupe longitudinale passant par l'axe de l'os, faite après décalcification par l'acide chromique. Coloration au carmin. — *m*, ilot central calcifié ; *n*, cartilage fœtal : *c*, croûte osseuse périchondrale ; *p*, périoste et périchondre. — 45 diam.

Tout autour du point calcifié, les capsules cartilagineuses forment des séries rayonnées et deviennent de plus en plus petites à mesure qu'elles s'en éloignent (fig. 166).

Immédiatement au-dessous du périchondre et au niveau de la zone calcifiée, il existe une couche spéciale qui enveloppe l'os cartilagineux comme d'un manchon. Cette couche (*c*, fig. 166), que je désigne sous le nom de *croûte osseuse périchondrale*[1], forme le premier rudiment de l'os vrai. Elle est composée de cellules incomplètement enfouies dans une substance solide qui, après décalcification dans l'acide chromique, se colore fortement en rouge par le carmin, tandis que la zone calcifiée centrale, traitée de la même façon, demeure incolore. C'est là un caractère important, car toute substance osseuse de nouvelle formation, après qu'elle a été décalcifiée, se colore en rouge par le carmin, tandis que les restes de la substance cartilagineuse demeurent incolores ou ne sont que faiblement colorés, après l'action même prolongée de ce réactif.

1. Comptes rendus, 10 nov. 1873.

A ce moment, le cartilage ne contient point encore de vaisseaux, pas plus dans sa partie hyaline que dans sa partie calcifiée. Par contre, le périchondre en possède, comme on peut le voir sur des pièces dont le système vasculaire a été injecté, et c'est seulement dans leur voisinage qu'il se forme le tissu osseux vrai de la croûte osseuse périchondrale. Le point d'ossification est simplement ossiforme. Il s'y développe du véritable tissu osseux seulement après que les vaisseaux venus du périchondre y ont pénétré et y ont creusé des espaces médullaires.

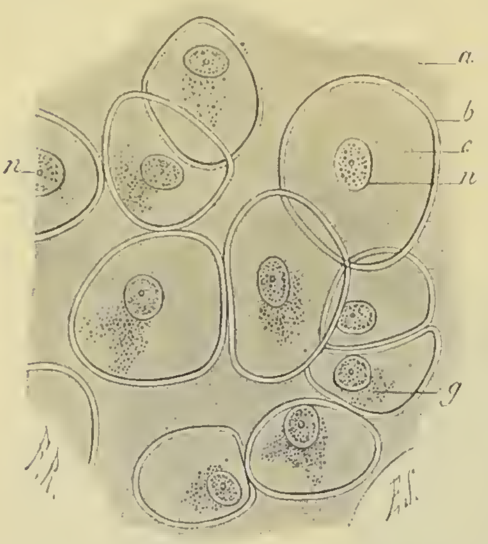


Fig. 167. — Portion centrale, infiltrée de sels calcaires, du métacarpien représenté dans la figure 166. — *a*, substance fondamentale du cartilage; *b*, capsules; *c*, masse cellulaire; *n*, noyau; *g*, zone granuleuse du protoplasma autour du noyau. — 520 diam.

Reprenons maintenant l'étude de la ligne d'ossification. En l'examinant à l'œil nu ou à la loupe, sur un os frais de nouveau-né, divisé suivant sa longueur avec un scalpel, on y reconnaît facilement plusieurs couches.

Au cartilage fœtal hyalin, succède une zone également cartilagineuse, mais plus transparente et présentant un reflet bleuâtre. Au-dessous de celle-ci, commence brusquement une couche opaque d'un gris jaunâtre à laquelle fait suite le tissu osseux embryonnaire, caractérisé par son apparence spongieuse et sa coloration rouge, due à la présence de vaisseaux remplis de sang.

Si l'on examine, à un grossissement de 300 à 400 diamètres, ces différentes couches, dans la coupe d'os d'embryon dont nous avons décrit plus haut la disposition générale (*e*, fig. 165), on distingue dans le cartilage fœtal les capsules anguleuses qui le caractérisent. Dans la couche du cartilage qui a un reflet bleuâtre et qui touche à la ligne d'ossification, les cellules sont plus volumineuse que dans le cartilage fœtal. Leur forme, leurs dimensions et leur groupement varient dans les différents étages de cette couche. Ainsi, d'abord rondes et réunies en petits groupes, elles forment bientôt des séries longitudinales, d'autant plus longues qu'elles sont plus voisines de la couche osseuse. Les cellules qui composent ces séries sont aplaties les unes contre les autres et présentent un arrangement semblable à celui des piles de monnaie. Ces piles (*a*, fig. 168), qui sont toutes disposées suivant l'axe de l'os, sont à peu près parallèles, et entre elles il reste des colonnes de substance cartilagineuse (*b*, fig. 168) transparentes et striées suivant leur longueur.

La couche calcifiée sous-jacente est formée des mêmes éléments; seulement les cellules cartilagineuses y sont devenues arrondies et les cavités qui les contiennent présentent des bords très nettement dessinés. Les colonnes de substance cartilagineuse situées entre les piles que forment ces cellules paraissent constituées par une substance fortement réfringente et homogène, si la décalcification est complète, ou bien elles sont semées de granulations

fines et cependant distinctes, si les sels calcaires n'ont été dissous qu'en partie. A la limite de cette couche du côté de l'os, les cavités cartilagineuses s'ouvrent les unes dans les autres pour former des cavités plus grandes, anfractueuses, entre lesquelles subsistent des colonnes ou des travées de substance cartilagineuse. Ces travées sont limitées latéralement par une ligne festonnée en creux; elles demeurent incolores dans les préparations traitées par le carmin.

Dans la couche osseuse proprement dite, elles sont bordées d'un liséré coloré en rouge par le carmin (*n*, fig. 168). Dans cette bordure rouge, on aperçoit, non pas au point où elle commence à apparaître, mais un peu plus loin, des corpuscules osseux (*p*, fig. 168), tandis qu'il n'y en a jamais dans les travées de substance cartilagineuse. Les premiers espaces médullaires limités par ces travées contiennent de petites cellules colorées en rouge par le carmin et des anses vasculaires que l'on ne distingue bien que dans les préparations de pièces injectées.

En résumé, la zone du cartilage qui, à l'œil nu, se montre transparente et à reflets bleuâtres, correspond à celle où les cellules sont disposées en séries longitudinales. Nous désignerons le tissu qui la forme sous le nom de cartilage sérié. Dans la zone qui, à l'œil nu, est gris jaunâtre, on observe au microscope une infiltration calcaire simple du cartilage. Il n'y a pas encore là du véritable tissu osseux. Nous appellerons ostéoïde cette dernière couche, réservant le nom de couche osseuse, seulement à cette portion où, le long des travées cartilagineuses qui séparent les premiers espaces médullaires, s'est déposée de la substance osseuse et se sont produits des corpuscules osseux.

Tels sont les principaux faits relatifs au développement du tissu osseux aux dépens du cartilage. Leur étude soulève une série de problèmes pour la solution desquels il faut un examen plus attentif ou le secours d'autres méthodes.

Avant d'aller plus loin, il importe de chercher la solution du problème suivant :

Lorsque l'infiltration calcaire est produite, quelle est la cause de l'ouverture des capsules les unes dans les autres? qu'est-ce qui détermine la résorption de leurs parois pour donner naissance à ces cavités anfractueuses qui constituent les premiers espaces médullaires?

Quand on étudie attentivement cette résorption, on remarque qu'elle ne se fait pas dans une direction quelconque, mais seulement dans le sens de la croissance des vaisseaux. Pour s'assurer de ce fait, il faut l'étudier sur des pièces dont le système vasculaire a été injecté. Ces injections présentent ici quelques difficultés, parce qu'à cette période de leur développement les vaisseaux ont peu de solidité. Aussi faut-il choisir non pas des embryons, mais des animaux en voie de croissance (des lapins de deux ou trois mois par exemple), chez lesquels les vaisseaux ont des tuniques un peu plus solides. Il faut employer une masse formée de bleu de Prusse en solution aqueuse ou additionnée de gélatine (p. 107). L'injection doit être faite dans l'animal entier et préférablement par le bout central d'une des carotides. Les os sont

enlevés avec soin, y compris le périoste, et placés dans l'alcool, pour être soumis ultérieurement à la décalcification par l'acide picrique. Les coupes sont colorées par le picrocarminate. On obtient encore de meilleurs résultats en traitant les os injectés par le bichromate, l'acide chromique, etc., et en colorant les coupes par la purpurine (voy. p. 95).

Dans les coupes longitudinales des grands ou des petits os longs, examinées dans la glycérine ou dans le baume du Canada, on voit les vaisseaux sanguins, remplis de la matière colorée, partir de la moelle centrale et envoyer du côté du cartilage des rameaux qui, en s'insinuant dans les premiers espaces médullaires, arrivent jusqu'à la ligne d'ossification. Situés entre les travées cartilagineuses, ils s'avancent jusqu'au plafond de ces espaces et s'y recourbent pour former des anses dont la convexité est en rapport direct avec une capsule de cartilage destinée à disparaître bientôt. Cette disposition est tellement nette, qu'il est impossible de ne pas reconnaître que les vaisseaux jouent un très grand rôle dans la résorption du cartilage d'ossification.

Cependant les histologistes ne s'entendent pas sur les causes qui déterminent la formation et l'agrandissement des espaces médullaires. Ils ne s'entendent pas non plus sur le rôle des cellules de cartilage dans le processus de l'ossification.

D'après H. Müller[1], au niveau de la couche ostéoïde, les capsules ouvertes laissent proliférer d'une façon active les cellules qu'elles contenaient. Ces cellules, libres dans les premiers espaces médullaires, deviennent des cellules de la moelle, et, comme les autres cellules médullaires, peuvent ensuite former des corpuscules osseux. Müller reste dans le domaine des faits observables; il n'émet pas d'hypothèses sur la cause qui amène la résorption des capsules cartilagineuses.

Lovén[2], au contraire, dans un travail publié en 1865, en langue suédoise, soutient que les cellules embryonnaires de la moelle arrivent avec les vaisseaux dans les premiers espaces médullaires et y végètent avec eux; ce sont ces cellules qui, d'après lui, agissent sur la substance cartilagineuse calcifiée, la rongent pour ainsi dire et en absorbent les débris. Cet auteur n'indique pas ce que deviennent les cellules de cartilage.

D'un autre côté, Stieda[3], dans un mémoire publié à l'occasion du 50e anniversaire de la Société des médecins de Riga, partant de cette idée de Duhamel, de Flourens, d'Ollier, etc., que le périoste est par excellence l'organe formateur des os, admet que les vaisseaux sanguins du périoste envoient des prolongements dans l'intérieur de l'os, s'y ramifient et entraînent avec eux une partie des cellules qui doublent le périoste. Ce sont ces cellules qui, en se multipliant, formeraient toute la masse cellulaire de la moelle; le cartilage n'y aurait aucune part.

1. *H. Müller*, Ueber die Entwickelung der Knochensubstanz, etc. *Zeitschrift für wissensch. Zoologie*, t. IX, 1858, p. 148.

2. *Lovén*, Studier och undersökningar öfver benvåfnaden, förnämligast med afseende pa dess utweckling, analysé dans *Quain's Anatomy*, p. CX, par Sharpey, et dont un extrait a été publié en 1872 dans les *Comptes rendus de la Société physico-médicale* de Wurzbourg.

3. *Stieda*, Die Bildung des Knochengewebes, Leipzig, 1872.

Il nous semble que les assertions de Lovén et de Stieda sont trop absolues. Nos observations nous ont amené à d'autres conclusions. En choisissant bien les objets d'étude, c'est-à-dire en prenant des embryons très jeunes où le processus du développement est actif, on peut voir les cellules de cartilage, devenues libres après l'ouverture des capsules qui les contenaient, concourir à la formation des cellules qui remplissent les espaces médullaires nouvellement formés.

Quant à la cause qui amène la résorption des capsules cartilagineuses, si c'étaient, comme le pense Lovén, les cellules médullaires qui les rongent, on ne s'expliquerait pas pourquoi cette résorption ne se ferait que suivant l'axe de l'os, et pourquoi les espaces médullaires ne s'agrandissent qu'en longueur. Les travées cartilagineuses qui les séparent sont respectées, et cependant elles sont recouvertes de cellules médullaires dans toute leur étendue.

Tous les observateurs qui étudieront la résorption du cartilage sur des pièces injectées seront certainement frappés de ce fait que cette résorption se fait suivant la direction des vaisseaux. Presque toujours ces vaisseaux sont parallèles à l'axe de l'os; mais on voit aussi des bourgeons vasculaires dont la direction est transversale, et dans ce cas la résorption se fait à leur niveau et suivant le sens transversal. C'est ainsi que les premiers espaces médullaires présentent bientôt des communications latérales plus ou moins larges, et tel est le mécanisme de la formation du tissu spongieux.

Chez les très jeunes embryons, on observe un fait qui vient à l'appui de notre opinion. Les premiers alvéoles du tissu osseux paraissent complètement remplis de globules rouges du sang, de telle sorte que la limite du cartilage du côté de l'os semble formée par une hémorrhagie. Mais, en étudiant attentivement des coupes, faites suivant les méthodes déjà indiquées, on aperçoit, à la périphérie des îlots sanguins qui remplissent les alvéoles, des noyaux colorés en rouge; ces noyaux appartiennent à la paroi vasculaire. Il s'est donc produit une dilatation tellement grande des anses capillaires terminales qu'elles remplissent exactement les premières cavités médullaires. Il n'y a pas de cellules de la moelle dans ces cavités, et cependant la résorption du cartilage se produit.

Les coupes longitudinales des os en voie de développement, décalcifiés par l'une des méthodes précédemment indiquées, nous montrent, lorsqu'elles ont été colorées par le carmin, la substance osseuse sous la forme d'un liséré rouge, à la surface des travées cartilagineuses.

Dans les points où elle apparaît d'abord, au voisinage du cartilage, cette substance paraît homogène et ne contient aucune cellule; c'est seulement plus loin dans l'intérieur de l'os que l'on y observe des corpuscules anguleux, qui tantôt y sont complètement enfouis, tantôt n'y sont englobés qu'en partie et font alors saillie dans la cavité médullaire.

Parmi les cellules contenues dans cette cavité, quelques-unes sont appliquées sur sa paroi et la tapissent dans toute son étendue. Elles sont rondes ou polyédriques par pression réciproque; souvent elles sont allongées et contiennent, dans leur protoplasma granuleux, un noyau qui n'occupe pas

leur centre, mais le voisinage d'une de leurs extrémités. H. Müller les a nommées cellules médullaires, parce qu'il les considérait comme une simple variété de celles qui remplissent la cavité. Gegenbaur[1], qui les a le premier bien décrites, les a regardées comme des cellules spéciales qui serviraient à la formation de l'os. C'est en partant de cette idée qu'il les a appelées *ostéoblastes*. On les trouve en effet le long des travées osseuses en voie de formation, et leur rôle dans le développement du tissu osseux est de toute évidence.

Mais les ostéoblastes se rencontrent aussi dans les lacunes plus ou moins profondes qui se produisent dans les os sous l'influence de l'ostéite[2]. Ils recouvrent donc aussi bien les travées osseuses destinées à disparaître par la résorption inflammatoire que celles dont l'accroissement se poursuit[3]. La spécificité des ostéoblastes, au point de vue de la formation de l'os, n'est donc pas absolue. Du reste, les formes qu'ils affectent sont très variables, et, si souvent ils sont disposés le long des travées osseuses en voie de formation à la manière d'un épithélium cylindrique sur une muqueuse, cela tient principalement aux pressions qu'ils exercent les uns sur les autres.

Quelques-unes de ces cellules sont destinées à former des corpuscules osseux. A mesure que le dépôt de substance osseuse augmente d'étendue, on voit certains ostéoblastes englobés par elle, contenus à moitié dans la travée osseuse en voie de formation et à moitié dans l'espace médullaire, tandis que d'autres sont enveloppés de substance osseuse.

Il reste à connaître le mécanisme intime de la formation de la substance fondamentale de l'os. Provient-elle de l'élaboration des cellules médullaires ou ostéoblastes qui tapissent les travées cartilagineuses, ou bien, comme l'a soutenu Waldeyer[4], les ostéoblastes se transforment-ils directement en substance osseuse? Aucune observation probante n'est encore venue confirmer cette dernière opinion. Personne n'a vu les ostéoblastes se transformer ainsi, et, d'autre part, on ne s'expliquerait pas pourquoi, si les ostéoblastes subissent cette transformation, il y en a quelques-uns qui font exception et qui, au milieu des autres, persistent pour constituer des corpuscules osseux. D'ailleurs, l'observation attentive de préparations faites dans de bonnes conditions n'est pas favorable à la manière de voir de Waldeyer. Pour le dire en

1. *Gegenbaur*, Jenaische Zeitschrift für Medicin und Naturwissenschaft, 1864.

2. Ostéite, carie et tubercules des os, *Archives de physiologie*, t. I, 1868, p. 72.

3. Dans des expériences où, pour s'éclairer sur la résorption pathologique du tissu osseux, Billroth implanta dans les os des chevilles d'ivoire, il vit qu'au bout d'un certain temps ces chevilles, devenues irrégulières à leur surface, étaient partiellement résorbées comme le tissu osseux vivant dans l'ostéite. Kœlliker (*Verbreitung und Bedeutung der vielkernigen Zellen der Knochen und Zähne*, Würzburg, 1872), ayant étudié au microscope la surface de ces chevilles devenue irrégulière, a reconnu qu'elle était couverte d'ostéoblastes, qu'il a nommés pour cette raison ostéophages ou ostoclastes. Nous n'insisterons pas sur ces divers noms. Ils prêtent d'autant plus à confusion que les corpuscules osseux ont reçu chez nous le nom d'ostéoplastes.

Toutes ces cellules ne sont que des cellules médullaires transformées, et, à cette période du développement, cellules médullaires, ostéoblastes, ostoclastes, ostéophages, sont autant de noms différents par lesquels on a désigné les mêmes éléments, suivant la nature et le rôle qu'on leur a assignés.

4. *Waldeyer*, Ueber den Ossificationsprocess. *Arch. für microsc. Anat.*, t. 1, 1865, p. 354.

passant, cette manière de voir est fondée sur la doctrine de Max Schultze, à savoir que toute substance fondamentale ou intercellulaire provient d'une transformation *in situ* du protoplasma (voy. Développement du tissu conjonctif, p. 326).

Les os qui conviennent pour l'étude de la formation de la substance osseuse sont ceux d'animaux déjà grands et en voie de croissance, par exemple ceux d'un lapin de deux à trois mois. Les phalanges de ce dernier animal sont d'excellents objets d'étude. Ces os ayant été soumis à l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de l'acide chromique, de la gomme et de l'alcool (p. 341), on y fait des coupes longitudinales qui, colorées à la purpurine et examinées dans la glycérine ou préférablement dans l'eau pure, montrent des détails fort intéressants.

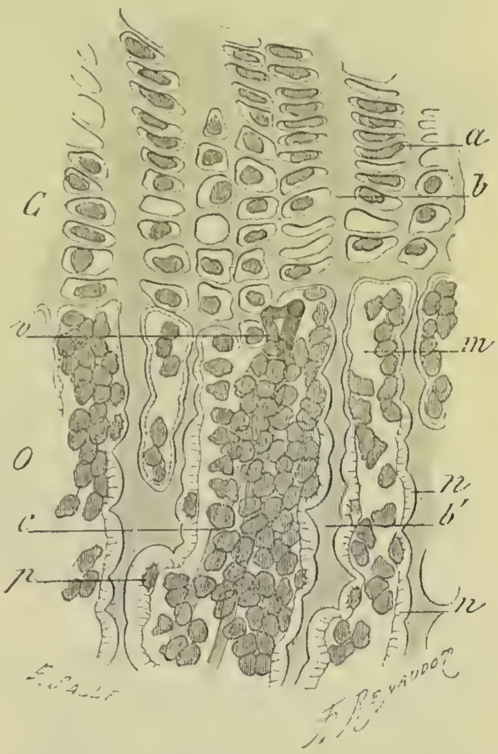


Fig. 168. — Coupe longitudinale de la tête d'un métacarpien d'un lapin de trois mois. Injection vasculaire. Bichromate d'ammoniaque. Acide chromique. Gomme. Alcool. Purpurine. — *C*, cartilage; *O*, os; *a*, cellule cartilagineuse; *b*, travée cartilagineuse; *m*, espace médullaire; *n*, liséré osseux; *b'*, travée directrice; *p*, corpuscule osseux; *c*, cellule médullaire; *v*, vaisseau. — 240 diam.

Comme, chez ces animaux, le développement du tissu osseux se fait avec lenteur, on peut suivre, le long des travées cartilagineuses directrices de l'ossification, le mode suivant lequel apparaît la substance osseuse (fig. 168).

Elle se montre sous la forme d'un liséré incolore, d'abord extrêmement mince, qui existe même sur le plafond des cavités médullaires, malgré qu'il soit destiné à disparaître plus tard. Dans cette mince couche de substance osseuse, il n'y a pas encore de corpuscules, et on y observe des stries perpendiculaires à sa surface. Ces stries représentent les canalicules primitifs. A un grossissement de 400 à 600 diamètres, dans des coupes d'une grande minceur, cette première couche osseuse paraît se limiter par un bord festonné régulièrement. Les petits festons de ce bord font saillie dans la cavité médullaire, et, au niveau de chacun des angles qu'ils laissent entre eux, se trouve un canalicule dont l'orifice est en entonnoir. En s'éloignant du cartilage, la bordure de substance osseuse augmente d'épaisseur et englobe des cellules médullaires qui deviennent ainsi des corpuscules osseux déjà étoilés.

De ces observations, il résulte que les canalicules primitifs des os se forment d'emblée et que la substance osseuse, en se déposant le long des travées de cartilage calcifié, réserve la place de ces canalicules. La nature, en bâtissant le tissu osseux, agit donc à la manière de l'architecte qui, en construisant une maison, en aménage la disposition intérieure et les ouvertures.

Nous venons de voir que c'est le long des travées de substance cartilagineuse calcifiée que se dépose la substance osseuse. Ces travées jouent donc un rôle important dans le travail de l'ossification. Leur direction générale est parallèle à l'axe de l'os, et elle est déterminée par les bourgeons vasculaires qui, partis de la moelle centrale, s'accroissent en marchant du côté du cartilage épiphysaire. Mais quand bien même la direction des travées cartilagineuses est subordonnée à celle des vaisseaux, il n'en est pas moins vrai que la texture de l'os cartilagineux dépendra de la forme et de la direction de ces travées. C'est pour cela que nous les désignerons sous le nom de travées directrices de l'ossification.

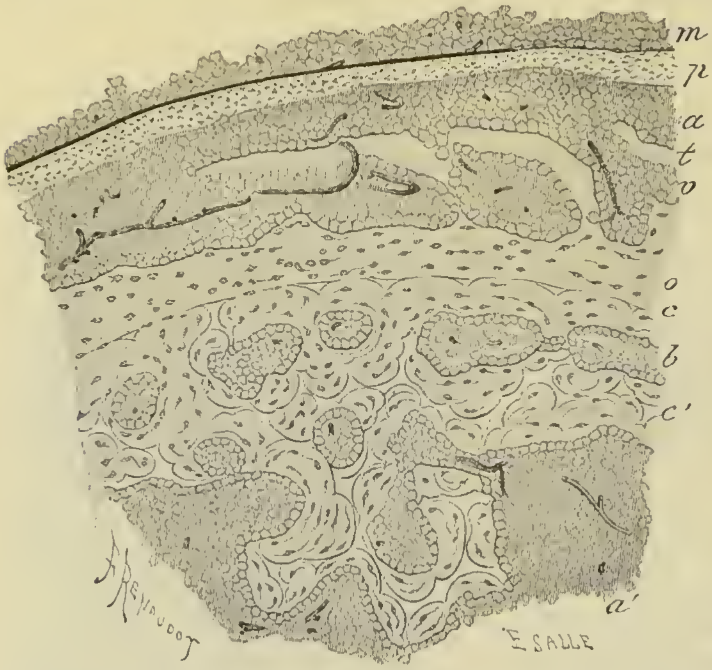


Fig. 169. — Coupe transversale du radius d'un embryon de chien, faite après décalcification par l'acide picrique en solution concentrée et colorée par le picrocarminate. — *m.* faisceaux musculaires coupés en travers; *p.* périoste; *m*, moelle sous-périostique; *t.* travée osseuse en voie de formation; *v.* vaisseau sanguin; *o.* os périostique; *c.* vestige des travées cartilagineuses qui séparent l'os périostique de l'os cartilagineux; *b.* espace médullaire de l'os cartilagineux; *c'.* coupe transversale des travées directrices; *a'*, moelle centrale. — 50 diam.

Nous avons vu que ces travées présentent sur la coupe des festons en creux plus ou moins profonds et qui correspondent aux capsules du cartilage. Lorsque la substance osseuse s'y dépose, elle les remplit en englobant quelques cellules qui forment autant de corpuscules osseux. Si la section ne passe pas par l'axe d'une des cavités ou boyaux médullaires, il peut se faire qu'elle ait séparé complètement un ou plusieurs de ces festons qui apparaissent alors comme des cercles entourés de substance cartilagineuse et formés par de la substance osseuse et des corpuscules osseux en nombre variable. Ces figures, qui sont connues depuis longtemps des histologistes, ont été prises par quelques-uns pour des capsules de cartilage closes (fig. 169), dans l'intérieur desquelles se serait formé d'emblée du tissu osseux.

Dans les coupes d'os décalcifiés par l'acide picrique ou chromique, les travées directrices de l'ossification se reconnaissent à leur réfringence, à l'absence d'éléments cellulaires dans leur intérieur et à leur forme spéciale qui est celle d'un polygone à côtés concaves. Nous possédons une série de réactifs colorants ayant une action différente sur ces travées et sur la substance osseuse qui les entoure. Dans les coupes d'os décalcifiés traitées par le carmin, la substance osseuse est colorée en rouge, tandis que celle des travées cartilagineuses est incolore ou très faiblement colorée. Le bleu de quinoléine

en solution alcoolique colore les travées cartilagineuses en violet intense et la substance osseuse en bleu clair. Le bleu d'aniline, insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcool, colore les travées cartilagineuses en bleu et n'a pas d'action sur la substance osseuse. La purpurine, contrairement au carmin, ne colore pas la substance osseuse, tandis qu'elle produit une coloration rose des travées directrices. Enfin l'hématoxyline colore en violet la substance osseuse et la substance cartilagineuse; mais celle-ci est plus fortement colorée.

Ces différents réactifs, le bleu de quinoléine et le bleu d'aniline principalement, nous permettront de reconnaître au milieu d'un os les plus faibles vestiges des travées directrices et d'établir quelles sont celles de ses parties qui sont de formation cartilagineuse.

Os périostique. — Pour compléter la description du développement des os longs, nous devons étudier la formation des couches osseuses périphériques que nous avons désignées sous le nom d'*os périostique*.

Examinons d'abord les phénomènes qui se produisent dans l'*encoche d'ossification* (fig. 165, *e*), c'est-à-dire dans le sillon tracé sur le cartilage tout autour de la ligne d'ossification. La tête du fémur de la grenouille est l'objet qui nous servira de guide, parce que l'encoche d'ossification y est extrêmement accusée; au lieu d'être un simple sillon, elle est une rainure profonde.

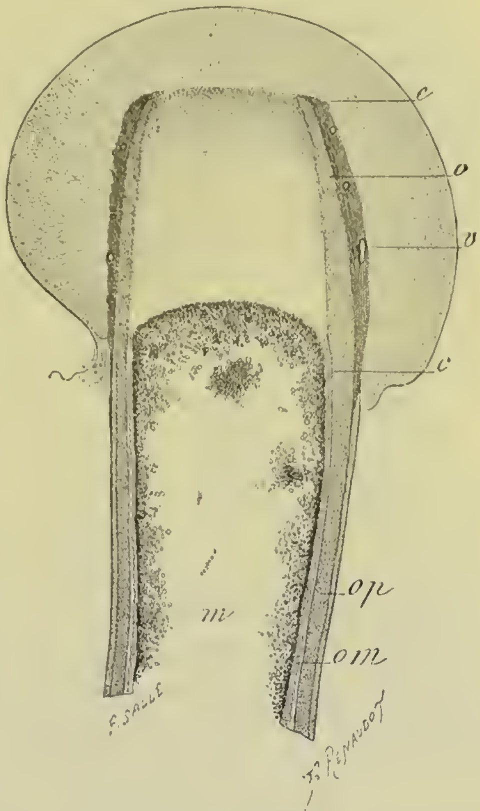


Fig. 170. — Coupe longitudinale de la tête du fémur de la grenouille. — *e*, encoche d'ossification; *o*, lame osseuse contenue dans l'encoche; *c*, lamelle cartilagineuse: *op*, os périostique; *om*, os médullaire: *m*, canal médullaire; *v*, vaisseau sanguin. — 10 diam.

Pour cette étude, les grenouilles présentent encore un autre avantage; tandis que chez les mammifères l'accroissement des os s'arrête à une période donnée qu'on appelle l'âge adulte, chez les grenouilles, il se poursuit pendant toute leur vie. Aussi peut-on prendre une grenouille quelconque. Grande ou petite, elle est toujours en voie de croissance, et il sera toujours possible d'y suivre les phénomènes du développement des os.

On a vu plus haut (p. 256) que le fémur de la grenouille est formé d'un seul système de Havers, ce qui se reconnaît aussi bien dans les coupes transversales que dans les longitudinales.

Dans une coupe longitudinale, faite après l'emploi d'une des méthodes de décalcification que nous avons indiquées, la tête cartilagineuse de l'os se montre comme une sphère dans laquelle sa diaphyse pénètre comme un emporte-pièce (fig. 170).

Le cartilage se montre avec des aspects différents suivant qu'il est com-

puis dans le cylindre osseux, qu'il se trouve en dehors, ou à son extrémité.

En dedans de ce cylindre, il présente tous ces phénomènes qui, dans les cartilages des mammifères, précèdent l'ossification, c'est-à-dire la disposition des capsules en séries, leur infiltration calcaire et la disparition de la substance cartilagineuse qui est remplacée par de la moelle. La ligne qui fait la limite du cartilage et de la moelle est droite ou sinueuse, elle correspond à ce que nous avons appelé chez les mammifères la ligne d'ossification. Le cartilage cesse brusquement à ce niveau et par conséquent ne donne naissance à aucune travée directrice ni à aucune formation osseuse, sauf dans des cas tout à fait exceptionnels. En dehors, le cartilage montre des capsules sphériques contenant des capsules secondaires. A son extrémité, les capsules de cartilage sont disposées suivant des rayons divergents.

Considérons maintenant, la portion du cylindre osseux comprise dans la tête cartilagineuse de l'os. Nous y trouvons trois couches : en dedans une lame hyaline très mince ne contenant pas d'éléments cellulaires, une couche moyenne possédant la structure du tissu osseux et une couche externe formée de tissu conjonctif et d'un élégant réseau vasculaire.

En se rapprochant du corps de l'os, la couche osseuse augmente peu à peu d'épaisseur, et, au point où cesse le cartilage, on voit la lamelle amorphe qui la double en dedans se poursuivre et former la limite du canal médullaire. Un peu plus loin s'y ajoutent de nouvelles couches osseuses qui se développent aux dépens de la moelle.

Lorsqu'elle est complètement constituée, la diaphyse possède trois couches, une externe représentant l'os périostique, une interne correspondant à l'os médullaire, et une intermédiaire, sous la forme d'une lame cartilagineuse mince infiltrée de sels calcaires. Pour mettre cette disposition en évidence, on peut employer différentes méthodes. Des coupes de l'os décalcifié sont colorées d'abord dans une solution alcoolique de bleu d'aniline insoluble dans l'eau et ensuite dans le picrocarminate. La préparation, montée dans la glycérine, laisse voir la lamelle cartilagineuse colorée en bleu, se continuant avec le cartilage épiphysaire, et les deux couches osseuses colorées en rouge. Pour reconnaître la structure différente de ces deux couches osseuses, il faut pratiquer dans l'os décalcifié et vers sa partie moyenne des coupes transversales (fig. 171) qui, après coloration au picrocarminate, sont examinées dans l'eau. Elles montrent à la périphérie l'os périostique dans lequel la substance fondamentale est constituée, non par des lamelles concentriques, mais par des fibres entre-croisées dans diverses directions. Dans l'os interne ou médullaire, la substance fondamentale est représentée par un système de lamelles à couches concentriques, semblable à celui qui entoure les canaux de Havers dans les os des mammifères. Entre les deux couches osseuses se trouve la lamelle cartilagineuse incolore c, qui indique d'une manière nette la limite entre les deux espèces d'os. Enfin le canal médullaire contient de la moelle osseuse qui, dans ses couches périphériques, c'est-à-dire au voisinage de l'os, est formée de petites cellules, tandis que son centre est occupé par des cellules adipeuses.

Nous avons décrit le fémur de la grenouille, parce qu'il présente le type simplifié de tous les os longs des mammifères et qu'il nous montre d'une manière élémentaire, pour ainsi dire, l'encoche d'ossification avec l'os périostique qui en dépend.

Nous y avons vu que l'os périostique et l'os médullaire, séparés l'un de l'autre par une lame intermédiaire, ont une structure différente. Chez les mammifères, il n'en est pas ainsi, parce que l'os médullaire aussi bien que l'os périostique possède des canaux de Havers, dont les systèmes de lamelles ont absolument les mêmes dispositions dans les deux espèces d'os. Les systèmes intermédiaires seuls déterminent la structure spéciale de l'os périostique, comme nous allons le voir.

Chez les mammifères, l'encoche d'ossification peut être reconnue sur tous les os qui se développent aux dépens d'un cartilage primitif. C'est ainsi que, dans les coupes longitudinales d'os d'embryons, obtenues à l'aide d'une des méthodes que nous avons indiquées, par exemple, l'action successive de l'alcool, de l'acide picrique, de la gomme et de l'alcool pour durcir et du picrocarminate pour colorer, on voit le périoste embryonnaire se confondre par ses couches superficielles avec le périchondre, tandis que dans ses couches profondes, qui correspondent à l'encoche, il se continue avec le cartilage (fig. 165). A un grossissement de 300 à 500 diamètres, on reconnaît que la portion du périoste correspondant à l'encoche est formée de fibres qui prennent naissance dans le cartilage lui-même.



Fig. 171. — Coupe transversale de la diaphyse du fémur de la grenouille, vers sa partie moyenne. — *m*, moelle centrale; *om*. os médullaire; *c*. lamelle cartilagineuse; *on*. os périostique. — 10 d.

Elles s'y développent, comme les fibres tendineuses, aux dépens de la substance du cartilage, et entre elles sont rangées à la file des cellules semblables à celles des tendons embryonnaires et qui, comme ces dernières, semblent provenir des cellules cartilagineuses.

Ces fibres, que j'ai désignées sous le nom de *fibres arciformes*, se recourbent en dedans et gagnent la surface de l'os embryonnaire. Au point où elles l'atteignent, les cellules qui les accompagnent deviennent plus nombreuses et prennent les caractères des ostéoblastes. Elles en ont aussi les propriétés, en ce sens qu'elles produisent de la substance osseuse et des corpuscules osseux. Ainsi, les fibres arciformes sont le centre d'aiguilles osseuses, et à ce point de vue elles se comportent dans la formation de l'os périostique comme les travées directrices dans la formation de l'os cartilagineux.

Cependant il y a une différence. Le jeune tissu osseux qui se développe sous le périoste ne constitue pas toujours aux fibres arciformes une enveloppe complète. Souvent on voit ces fibres traverser les premiers espaces vasculaires ou médullaires sous-périostiques pour aller s'enfoncer plus profondément dans la masse osseuse. Une fibre arciforme ayant pénétré dans l'os embryonnaire peut donc être, dans une partie de son trajet, englobée dans le tissu osseux et, dans une autre partie, simplement en rapport avec la moelle

ou les vaisseaux. Les travées cartilagineuses directrices, au contraire, sont recouvertes sur toute leur surface par du jeune tissu osseux, et elles ne demeurent jamais libres dans les espaces médullaires de l'os cartilagineux.

Tous ces phénomènes de l'ossification périostique peuvent être observés, comme nous l'avons dit, dans des coupes longitudinales d'os d'embryons de mammifères, décalcifiés et durcis à l'aide d'une des méthodes que nous avons indiquées. Mais, pour bien suivre tous les détails du processus, nous recommandons spécialement des préparations du calcanéum du chien nouveau-né, faites comme nous allons le dire. Chez le chien nouveau-né, le calcanéum présente un seul point d'ossification en forme de demi-sphère, noyé dans le cartilage primitif et ne touchant au périoste qu'au niveau de sa face plantaire. L'os tout entier étant enlevé, il faut le soumettre à l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de l'acide chromique, de la gomme et de l'alcool (p. 551), avant d'y pratiquer des coupes qui doivent être faites suivant un plan vertical antéro-postérieur. Ces coupes, débarrassées de la gomme par un séjour convenable dans l'eau, sont colorées à la purpurine, puis elles sont lavées et plongées dans du bleu de quinoléine dissous dans l'alcool. Au bout de quelques minutes, lorsqu'elles ont pris dans ce dernier réactif une coloration violette, elles en sont retirées, lavées une dernière fois et montées en préparations persistantes dans la glycérine.



Fig. 172. — Encoche d'ossification du calcanéum du chien nouveau-né. Bichromate de potasse. Acide chromique. Gomme. Alcool. Coloration à la purpurine et au bleu de quinoléine. — *c*, cartilage; *t*, travée directrice de l'ossification; *a*, substance osseuse; *o*. os périostique; *m*, fibres de l'encoche, naissant du cartilage; *p*, périoste; *n*, terminaison des fibres de l'encoche sur l'os périostique. — 80 diam.

Dans ces préparations, le cartilage hyalin et les travées directrices sont colorées en violet foncé, le tissu osseux est incolore ou gris bleuâtre. Le périoste se présente sous la forme d'un ligament incrusté dans deux encoches d'ossification, l'une antérieure, l'autre postérieure, et, par ses fibres superficielles, il se continue avec le périchondre. Examinées à un grossissement de 350 à 400 diamètres, les fibres arciformes figurent des arcs-boutants appuyés par une de leurs extrémités sur les couches superficielles de l'os et par l'autre sur le cartilage qui forme le fond de l'encoche. Elles sont inco-

lores, sauf au voisinage du cartilage où elles présentent une teinte violacée d'autant plus forte qu'elles en sont plus rapprochées. Or nous avons vu que cette coloration violette, produite par le bleu de quinoléine, appartient spécialement à la substance cartilagineuse; si donc les fibres arciformes, nées du cartilage, montrent encore dans une partie de leur longueur la même coloration, c'est qu'elles conservent pendant un certain temps la composition chimique de la substance cartilagineuse et ne prennent que peu à peu celle des fibres du tissu conjonctif.

Arrivées à l'os, les fibres arciformes s'y perdent en s'y enfonçant, et il se produit autour d'elles des aiguilles osseuses, qui forment autant de petites éminences coniques dont elles semblent la continuation.

La couche osseuse périostique est mince encore dans l'os que nous considérons en ce moment. Au-dessous d'elle, se trouve l'os médullaire caractérisé par les figures à bords concaves, colorées en violet, qui représentent les travées directrices. Jamais on ne voit une fibre arciforme traverser ces travées, et cependant, si ce phénomènes se produisait, on pourrait facilement le saisir à cause des différences de coloration.

Pour confirmer et compléter ces notions sur la structure d'un os en voie de développement, il faut y faire des coupes transversales au-dessous de l'encoche, dans les points où il y a en même temps ossification sous-périostique et ossification aux dépens du cartilage.

Dans ces coupes, on reconnaît exactement les deux portions de l'os. A la périphérie, le périoste forme une couche continue; au-dessous, se montrent des cellules entre lesquelles s'avancent des aiguilles osseuses droites ou recourbées. Ces aiguilles, qui en réalité représentent la coupe de trabécules osseuses ayant une direction longitudinale, se fondent dans un système d'aréoles formées par l'os embryonnaire et sont recouvertes d'une couche d'ostéoblases. Plus profondément, l'os de formation cartilagineuse se décèle par la présence des travées directrices du cartilage qui, coupées perpendiculairement à leur direction, forment des figures anguleuses, dont les bords concaves sont remplis par de la substance osseuse (fig. 169). Tout le centre de l'os est formé par du tissu spongieux d'origine cartilagineuse, ou bien il y a déjà un canal médullaire contenant de la moelle fœtale. Dans les pièces injectées, la plupart des vaisseaux, excepté quelques branches anastomotiques et des rameaux perforants venus du périoste, sont coupés perpendiculairement à leur direction.

Le périoste manque au niveau des tendons et des ligaments. Ceux-ci, logés dans une dépression de l'os embryonnaire, s'y terminent par des faisceaux qui se continuent sous forme de fibres de Sharpey avec la substance même de l'os. Entre les faisceaux tendineux il existe des cellules rondes ou polygonales à protoplasma granuleux, semblables à celles que l'on observe sous le périoste. Elles concourent à la formation de la substance osseuse qui, peu à peu, englobe chaque faisceau et qui, chez l'adulte, arrive même à dépasser la surface de l'os, de telle sorte que les insertions tendineuses, au lieu d'être comme chez le fœtus des dépressions plus ou moins profondes, sont au con-

traire des crêtes saillantes. Des coupes transversales, comprenant en même temps le radius, le cubitus et le ligament interosseux, sont très démonstratives (fig. 175). Le fémur, avec sa ligne âpre, présente un objet d'étude analogue et du même intérêt.

Pour faire comprendre comment les couches osseuses sous-périostiques de l'os embryonnaire se modifient de manière à former le tissu osseux de la diaphyse des os longs, rappelons en quelques mots les faits que nous avons observés dans une coupe transversale du fémur de l'homme adulte dont les corpuscules et les canalicules sont injectés de bleu d'aniline insoluble dans l'eau. Les corpuscules qui se trouvent à la périphérie des systèmes de Havers ont des canalicules récurrents; les fibres de Sharpey n'existent que dans les



Fig. 175. — Radius et cubitus d'un embryon de chien. Section transversale. Alcool. Acide picrique. Gomme. Coloration au picrocarminate. — *A*. radius; *B*. cubitus; *l*, ligament interosseux; *p*, périoste; *mc*, moelle centrale; *msp*, moelle sous-périostique; *lo*, travées osseuses; *n*, point où le ligament entre dans l'os; *n'*, union du ligament avec le périoste. — 24 diam.

systèmes intermédiaires, jamais elles ne pénètrent dans les systèmes de Havers.

Les fibres de Sharpey n'étant autre chose que des fibres arciformes ayant subi l'infiltration calcaire et étant plongées dans la substance osseuse, il en résulte que tous les systèmes intermédiaires qui contiennent de ces fibres ont été nécessairement formés sous le périoste. Quant aux systèmes de Havers, ils n'en possèdent pas, parce qu'ils proviennent d'une élaboration médullaire; ils sont les analogues de la couche la plus interne du fémur de la grenouille, celle qui est formée aux dépens de la moelle (p. 352).

Après cette étude du développement des os longs, il convient d'en formuler la loi générale. Lorsqu'il est entièrement cartilagineux, un os possède déjà sa forme caractéristique, et, pendant tout son développement, quel que soit le rapport entre les masses cartilagineuses, osseuses et fibreuses qui le constituent, cette forme se maintient. L'accroissement en longueur et l'accroissement en épaisseur sont donc proportionnels. Nous avons vu que

l'accroissement en longueur se fait entièrement aux dépens du cartilage. A mesure que celui-ci est usé par le travail de l'ossification, il s'y fait une élaboration formative qui en augmente la masse, de telle sorte que, quand bien même il est en partie absorbé pour former de l'os, non seulement il ne diminue pas, mais il augmente en longueur, au moins pendant la plus grande période du développement. Il augmente aussi en largeur à mesure que s'agrandit le diamètre de l'os.

L'accroissement de l'os en épaisseur dépend de la formation de couches osseuses sous-périostiques dont la direction est donnée par des fibres spéciales qui, parties des bords du cartilage épiphysaire, pénètrent dans l'intérieur de l'os, après un trajet plus ou moins long. Les cellules formatrices de l'os périostique ont très probablement pour origine des cellules de cartilage qui se dégagent avec ces fibres et les accompagnent. L'os s'accroît donc en épaisseur aux dépens d'un matériel fourni par le tissu cartilagineux. L'accroissement d'un os long en épaisseur et son accroissement en longueur se trouvent donc ramenés à une même loi.



Fig. 174. — Coupe transversale de la diaphyse du fémur de l'homme. Imbibition des corpuscules et des canalicules primitifs par le bleu d'aniline. Conservation dans la glycérine salée. — *H*, canaux de Havers: *c*, corpuscules osseux; *b*, confluents lacunaires: *a*, corpuscules à canalicules récurrents; *s*, système intermédiaire avec des fibres de Sharpey *h*; *p*, grosses fibres de Sharpey des systèmes intermédiaires. — 300 diam.

A leur origine, les os longs n'ont pas un canal médullaire unique, mais ils possèdent à leur centre une cavité anfractueuse limitée par des travées d'os cartilagineux. A mesure que l'os se développe, ces travées sont résorbées par la moelle et les vaisseaux, de la même façon que le cartilage d'ossification est résorbé pour former les premiers espaces médullaires. Cette résorption se poursuit, et bientôt elle atteint les couches formées sous le périoste, de telle sorte que, dans un os adulte, c'est seulement dans les épiphyses que l'on trouve encore des vestiges des travées directrices.

FORMATION DES OS AUX DÉPENS DU TISSU FIBREUX

Dans les os qui ne sont pas précédés d'un cartilage, le développement du tissu osseux se fait dans une masse fibreuse préexistante. Parmi ces os, ceux qui montrent les phénomènes d'ossification les plus simples sont les tendons des oiseaux.

Les tendons fléchisseurs des doigts des poulets, des dindons, etc., sont constitués, dans la plus grande partie de leur longueur, par du tissu osseux véritable sillonné de canaux de Havers dont la direction générale est parallèle à l'axe du tendon. Pour s'en convaincre, il faut en faire des préparations sèches que l'on monte dans le baume du Canada (voy. p. 250). Puis il convient d'en faire d'autres pour suivre les phénomènes de l'ossification. A cet effet, les tendons, étant décalcifiés à l'aide de l'une des méthode qui ont été indiquées dans l'étude générale du développement du tissu osseux, on y fait des coupes que l'on colore, soit avec le carmin, soit avec la purpurine. Il faut examiner ces coupes d'abord dans l'eau et ensuite dans la glycérine.

Dans les coupes transversales, tous les faisceaux tendineux et la plupart des canaux de Havers sont coupés en travers. Quelques-uns seulement de ces derniers se présentent suivant leur longueur; ils sont situés à la périphérie du tendon et conduisent les vaisseaux qui en gagnent l'intérieur (fig. 175). Une observation superficielle, faite à un grossissement de 60 à 150 diamètres, conduirait à croire que les canaux de Havers sont entourés, comme dans les os de mammifères, de systèmes de lamelles concentriques, disposés au milieu des faisceaux tendineux qui auraient subi simplement l'infiltration calcaire. Mais une observation plus attentive démontre qu'il n'en est rien; ainsi que Lieberkühn[1] l'a soutenu, les parties qui enveloppent la lumière des canaux de Havers sont formées, comme le reste du tendon, par des faisceaux connectifs coupés en travers, de telle sorte que presque toute la substance fondamentale est constituée par des fibres de Sharpey. Ces fibres représentent bien les faisceaux du tendon; seulement, même lorsque les parties calcaires ont été complètement enlevées, elles sont rigides et homogènes, tandis que les faisceaux tendineux ordinaires sont souples et montrent, sur les coupes transversales, des dessins correspondant aux fibrilles ou aux groupes de fibrilles qui les constituent.

L'ossification des tendons est donc produite non seulement par une infiltration de sels calcaires, mais encore par une transformation spéciale de leur substance collagène. Du reste, cette transformation s'observe sur toutes les fibres arciformes qui deviennent des fibres de Sharpey, et si nous n'en avons pas encore parlé, c'est que, dans les tendons ossifiés des oiseaux, elle est beaucoup plus manifeste.

Au voisinage des canaux vasculaires, les faisceaux tendineux ont subi une condensation plus prononcée que dans le reste du tendon; leur limite y est moins nettement dessinée, bien qu'elle soit encore reconnaissable. En outre, ils font saillie dans la lumière de ces canaux et dessinent une bordure festonnée dont chaque feston correspond à un faisceau tendineux coupé en travers.

Tous ces faisceaux tendineux, aussi bien ceux qui avoisinent les vaisseaux que les autres, sont séparés par des bandes d'une substance homogène, dont l'épaisseur est variable, et dans laquelle sont placés, principalement aux

1. *Lieberkühn*, Die Ossification des Sehnengewebes, *Arch. Reichert et du Bois-Reymond*, 1860, p. 8.

angles formés par plusieurs faisceaux, des noyaux bien visibles, surtout si les préparations ont été traitées par le carmin ou par la purpurine. Ces noyaux appartiennent aux corpuscules osseux.

Si maintenant, pour suivre les modifications qui se produisent dans les éléments cellulaires du tendon, on y pratique des coupes longitudinales comprenant à la fois les parties ossifiées et celles qui ne le sont pas, on verra les cellules plates disposées en séries devenir globuleuses à la limite de l'ossification. Chez les jeunes animaux dont les tendons ne sont pas encore ossifiés, on rencontre, dans les points qui plus tard seront envahis par l'ossification, des rangées de cellules globuleuses placées entre les faisceaux tendineux. Là où elles existent, le tendon a perdu de sa souplesse et est devenu chondroïde.

Dans les tendons en voie d'ossification, à la limite des parties ossifiées, se trouve aussi une zone chondroïde. Les cellules qui y sont contenues sont globuleuses; elles diffèrent des ostéoblastes par leur forme, et cependant elles en ont les propriétés, car c'est autour d'elles que se produit, entre les faisceaux tendineux, de la substance osseuse.



Fig. 175. — Tendon fléchisseur des doigts du poulet ayant subi l'ossification. Décalcification par l'acide chromique. Coupe transversale. Coloration à la purpurine. Examen dans la glycérine. — *A*, couche connective de la surface du tendon; *B*, couche non ossifiée; *C*, couche ossifiée; *s*, canal de Havers à direction transversale; *s'*, canaux de Havers à direction longitudinale; *n*, coupe transversale des faisceaux tendineux; *n'*, corpuscules osseux. — 200 d.

L'ossification des tendons des oiseaux nous montre dans sa plus grande simplicité le développement du tissu osseux dans le tissu fibreux ou tendineux. Chez les mammifères, les os qui apparaissaient dans des lames fibreuses préformées, comme les os de la voûte du crâne, ont un développement un peu plus compliqué. Les pariétaux, le frontal et la portion écailleuse du temporal d'embryons humains de trois à cinq mois, les mêmes os, chez les jeunes embryons des autres mammifères, constituent de bons objets d'étude pour suivre ce développement.

Pour y réussir, la méthode la plus simple consiste à enlever le péricrâne sur la face externe, et la dure-mère sur la face interne de l'os, en les arra-

chant du centre à la périphérie avec une pince. On aperçoit alors, à la limite de l'os plat, une série d'aiguilles noyées dans une lame fibreuse qui constitue la *membrane d'ossification*. Celle-ci, avec la portion osseuse qui lui fait suite, est placée sur une lame de verre. Quelques gouttes de picrocraminate y étant ajoutées, on obtient une préparation où l'on peut suivre les principales phases du développement du tissu osseux. Dans la membrane d'ossification, il existe des fibres colorées en rouge qui se terminent librement par une extrémité effilée, et qui, par l'autre, plongent dans le jeune tissu osseux, comme les fibres arciformes dans l'os sous-périostique. Ces fibres sont simples, ou bien, se réunissant et se séparant, elles constituent dans la portion membraneuse un réseau plus ou moins compliqué. Autour d'elles, il existe des cellules embryonnaires qui, au voisinage de l'os, revêtent les caractères des ostéoblastes. Bientôt, sous l'influence de ces derniers, elles s'entourent de tissu osseux et deviennent ainsi des fibres directrices de l'ossification. Mais il ne se développe pas toujours du tissu osseux sur toute leur surface, et bien qu'elles en soient recouvertes dans la plus grande partie de leur longueur, elles paraissent en certains points complètement libres dans les premiers espaces médullaires ou vasculaires.

Ces espaces sont larges à la périphérie de l'os; mais ils diminuent de diamètre à mesure qu'on se rapproche de son centre, parce qu'il se dépose constamment de nouvelles couches osseuses. Ces nouvelles couches présentent une structure lamelleuse comme toutes celles qui sont de formation médullaire, et elles constituent autour des vaisseaux des systèmes aussi complets que dans les os longs développés aux dépens des cartilages.

Pour étudier le développement des os plats du crâne, on peut utiliser des pièces qui ont séjourné dans le liquide de Müller, en employant pour le reste le mode de préparation qui vient d'être indiqué, mais lorsque l'on veut suivre l'accroissement en épaisseur de ces os, il faut, après les avoir décalcifiés, y pratiquer des coupes transversales que l'on colore soit avec le carmin, soit avec la purpurine. Les espaces médullaires s'y montrent alors remplis d'un tissu conjonctif jeune, dont la constitution se rapproche beaucoup de celle du tissu muqueux. Les travées osseuses sont recouvertes d'une couche régulière d'ostéoblastes qui y figure comme un revêtement épithélial de cellules cylindriques.

En dehors, on voit le périoste envoyer dans l'intérieur de l'os des fibres qui s'y comportent comme les fibres directrices de la membrane d'ossification. En certains points, là où la coupe présente une direction convenable, ces faisceaux, sectionnés en travers, pressés les uns contre les autres et pris à moitié dans le jeune tissu osseux, fournissent des figures semblables à celles que l'on observe dans les coupes transversales d'un tendon ossifié des oiseaux.

Toutes ces fibres sont destinées à devenir des fibres de Sharpey, et c'est pour cela qu'il y a une si grande quantité de ces dernières dans les os plats du crâne à l'état adulte (fig. 176). Elles y forment un système réticulé complexe dans lequel, elles se rapprochent en certains points, s'écartent

dans d'autres et finalement se terminent à la périphérie des systèmes de Havers.

RÉSUMÉ DU DÉVELOPPEMENT DU TISSU OSSEUX

Les os appartiennent au vaste système qui constitue la charpente de l'organisme, c'est-à-dire qu'ils concourent avec les cartilages et tout le tissu conjonctif à la formation du squelette du corps et des organes. Il n'est dès lors pas surprenant que le cartilage et le tissu conjonctif puissent prendre part à leur développement.



Fig. 176. — Coupe transversale du frontal du chien adulte, faite sur l'os sec, puis décalcifiée par l'acide chlorhydrique. — *S*, fibres de Sharpey; *c*, corpuscules osseux; *v*, canal vasculaire entouré d'un système de lamelles où les fibres de Sharpey ne pénètrent pas. — 400 diam.

Nous avons vu les masses cartilagineuses du corps être en continuité avec le périchondre, avec les ligaments et avec les tendons; de même, les os sont en continuité avec les cartilages, avec le tissu fibreux du périoste, avec les ligaments et avec les tendons. Cette continuité est établie à l'aide des fibres arciformes, perforantes ou de Sharpey.

La substance fondamentale de certains os est même presque complètement formée de fibres de Sharpey, ainsi qu'on l'observe dans les tendons ossifiés des oiseaux.

Dans les autres os, la quantité relative de ces fibres est extrêmement variable. Elle varie suivant les os que l'on considère, elle varie aussi pour un même os suivant les espèces animales. C'est ainsi que les os secondaires du crâne et de la face contiennent dans leur intérieur une quantité plus considérable de ces fibres que les os du tronc et des membres; c'est ainsi que les os longs du mouton renferment plus de fibres de Sharpey que les mêmes os de l'homme, du chien, du lapin, etc.

Il est des os, ou du moins des portions d'os qui ne possèdent pas de fibres de Sharpey, les épiphyses des os longs par exemple. En revanche on y trouve des travées que leur forme et une série de caractères microchimiques font reconnaître pour des restes de la substance fondamentale du cartilage au sein duquel l'ossification s'est effectuée.

Sauf dans le cas où un os est constitué presque uniquement par des fibres de Sharpey, la formation de la substance osseuse est sous la dépendance d'éléments cellulaires spéciaux dont l'origine est encore obscure, au moins pour quelques-uns d'entre eux. Ces éléments, cellules médullaires jeunes,

ostéoblastes, se montrent dans l'encoche d'ossification, où ils paraissent provenir des cellules de cartilage; ils se montrent aussi dans les premiers espaces médullaires. Ceux qui apparaissent en ces points proviennent-ils des cellules de cartilage mises en liberté par la dissolution des capsules secondaires, comme H. Müller l'a soutenu, ou sont-ils amenés par la végétation vasculaire qui les aurait pris sous le périoste pour les conduire jusque-là, comme le veulent Lovén et Stieda? Ces deux derniers observateurs ont certainement eu raison d'insister sur le bourgeonnement de la moelle dans les premiers espaces médullaires, mais ont été trop absolus lorsqu'ils ont nié que les cellules du cartilage puissent proliférer et devenir des ostéoblastes.

Le rôle de ces derniers dans la résorption du cartilage pour produire les premières cavités médullaires n'est pas établi. Cette résorption s'effectue du reste dans des directions qui sont déterminées par le bourgeonnement des vaisseaux sanguins et paraît être sous sa dépendance immédiate.

La substance osseuse proprement dite, celle par exemple qui, sous forme de lamelles, entourent les canaux de Havers, se produit sous l'influence des ostéoblastes.

Rappelons d'abord que les corpuscules osseux, qui sont de véritables éléments cellulaires, ne sont que des ostéoblastes englobés dans la substance de l'os; mais le rôle intime des ostéoblastes dans la formation de la substance osseuse peut être discuté. Cette dernière résulte-t-elle tout entière de l'accumulation d'ostéoblastes momifiés et pétrifiés, comme Waldeyer l'a soutenu, ou est-elle un produit de formation périphérique à ces ostéoblastes, et est-elle développée simplement sous leur influence? C'est là une question à laquelle répondront d'une manière différente ceux qui ont adopté la théorie du protoplasma formateur et ceux qui admettent la théorie de la substance intercellulaire. Je dirai cependant que je n'ai jamais pu observer, avec les moyens délicats que j'ai employés dans cette étude, la transformation directe des ostéoblastes tout entiers en substance osseuse. Ils conservent toujours tous leurs caractères, en dehors de la ligne qui limite les travées osseuses en voie de développement. Si donc leur protoplasma se transforme en substance osseuse dans la partie qui touche à l'os, il faut admettre qu'il s'en développe à mesure une nouvelle quantité à la périphérie pour converver à chaque ostéoblaste sa dimension primitive.

Cependant c'est bien sous l'influence des ostéoblastes que se développe la substance osseuse. On ne saurait attribuer son origine aux corpuscules osseux, car elle se montre le long des travées cartilagineuses sous forme de lisérés festonnés à un moment où elle ne contient encore aucun de ces corpuscules. D'autre part, cette substance ne saurait être considérée comme un simple dépôt, car dès son origine elle est munie de fins canaux perpendiculaires à la direction des travées et qui ne sont autre chose que les canaux osseux primitifs; ceux-ci ne sont donc pas creusés après coup dans la substance fondamentale, comme les histologistes l'ont cru pendant longtemps.

La substance osseuse élaborée par les ostéoblastes sous forme de lamelles

concentriques ne compose pas l'os tout entier, mais elle en est la partie la plus importante et vraiment caractéristique.

CHAPITRE VIII

TISSU MUSCULAIRE

Le tissu musculaire se distingue par une propriété physiologique particulière : la contractilité. Cette propriété ne saurait suffire cependant à le définir, car on connaît des éléments qui se contractent et qui néanmoins ne sont rangés dans le système musculaire ni par les anatomistes, ni par les physiologistes : les cellules de la lymphe et les cellules à cils vibratiles, par exemple. Tout ce qui est contractile n'est donc pas nécessairement musculaire. Dès lors c'est dans la structure intime des muscles que nous devrons chercher la définition de leur tissu. Toutefois la contractilité[1] reste un élément important de cette définition, car tout ce qui est musculaire est contractile, et elle est aussi un des éléments principaux de la classification, car c'est d'après les divers modes de contraction que l'on peut diviser les muscles en différents groupes.

Le mode de contraction est, en effet, loin d'être le même pour tous

1. La contractilité est une propriété inhérente au muscle, et si les nerfs, par leur activité, la mettent en jeu, elle peut aussi se produire d'une manière indépendante. Cette indépendance a été démontrée par les expériences de J. Müller et Sticker, de Longet, et surtout par celles de Cl. Bernard.

J. Müller et Sticker (*Müller's Archiv*, 1834, p. 202, et Müller, *Traité de physiologie*, trad. française, t. II, p. 48), après avoir coupé le nerf sciatique chez des lapins et chez un chien, constatèrent, au bout d'un temps variant, suivant les expériences, entre trois semaines et deux mois et demi, que l'excitation du segment périphérique du nerf sectionné ne produisait aucun mouvement dans les muscles correspondants, tandis que la même excitation exercée directement sur ces muscles y déterminait des contractions.

Longet (*Traité de physiologie*, 2e édition, t. I, 2e partie, p. 24) a expérimenté sur le chien. Il a fait chez cet animal la section de différents nerfs moteurs. Quatre jours après, le segment périphérique de ces nerfs avait perdu ses propriétés, c'est-à-dire qu'en l'excitant dans un point quelconque de son étendue, on ne déterminait aucune contraction des muscles correspondants, tandis que la même excitation, appliquée directement sur ces muscles, y amenait des contractions aussi énergiques qu'à l'état normal. Si donc un nerf a perdu ses propriétés physiologiques, tandis que les muscles correspondants les ont conservées, c'est que la contractilité est indépendante des nerfs.

L'expérience de Longet, en ce qui concerne le temps au bout duquel le nerf a perdu ses propriétés, est exacte pour le chien, mais elle ne l'est pas s'il s'agit d'autres animaux. Chez le lapin, le segment périphérique d'un nerf divisé n'est plus excitable quarante-sept à quarante-huit heures après la section. Chez la grenouille, en automne, il faut plus de trente jours pour que le nerf cesse d'être excitable.

Claude Bernard (*Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses*, 1857, p. 316), dans ses célèbres expériences sur l'action physiologique du curare, a montré que, sous l'influence de ce poison, les nerfs moteurs de la grenouille ont perdu toute excitabilité, tandis que les muscles sont encore contractiles. Il en a conclu que la contractilité est une propriété inhérente à la fibre musculaire elle-même.

les muscles, comme on peut s'en rendre compte par l'expérience suivante :

Choisissons, pour cette expérience, un lapin adulte. Pratiquons sur cet animal la section du bulbe avec un scalpel. La respiration est immédiatement supprimée, et le tronc et les membres cessant d'être en rapport avec l'encéphale sont en résolution; il ne s'y produit aucun mouvement volontaire. Pour y maintenir la vie pendant la durée de l'expérience, pratiquons la respiration artificielle. A cet effet, la trachée est rapidement dégagée au moyen d'une excision faite à la peau de la région antérieure du cou avec des ciseaux courbes, puis elle est ouverte dans l'étendue d'un centimètre par une incision longitudinale, et l'on y introduit une canule que l'on y fixe au moyen d'une ligature. Cette canule termine un petit appareil à respiration artificielle spécialement destiné aux lapins et aux petits animaux. Comme il peut être utile aux histologistes qui se proposent d'étudier les tissus sur l'animal vivant et immobilisé, sa description doit trouver place ici. Une poire de caoutchouc (*a*, fig. 177) d'une contenance de 120 centimètres cubes est en communication avec un tube de même substance qui s'adapte sur une des branches d'un petit tube en cuivre à trois voies, *b*. Des deux autres branches de ce dernier tube, l'une contient une soupape s'ouvrant de dehors en dedans, et l'autre une soupape dont le dégagement se fait de dedans en dehors. Sur cette dernière est ajusté un tube de caoutchouc terminé par la canule qui doit être introduite dans la trachée de l'animal. Cette canule présente, au voisinage de son extrémité, une gorge pour y maintenir la ligature, et, en deçà de la gorge, une petite ouverture *t*.

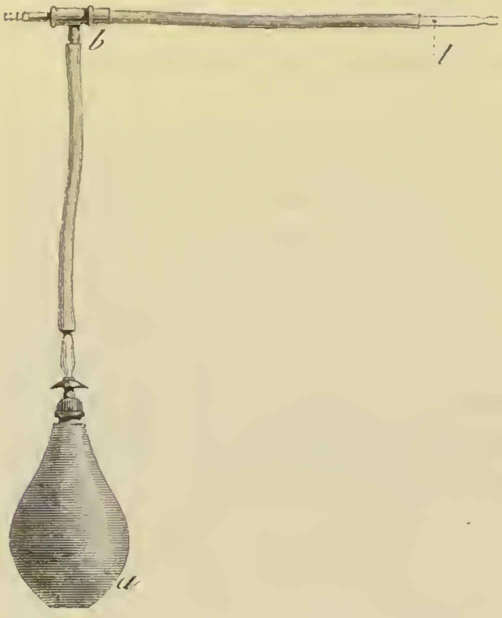


Fig. 177. — Appareil à respiration artificielle pour le lapin. — A, poire en caoutchouc; *b*, tube en cuivre à soupape; *t*, canule en verre avec un petit trou latéral. — 1/5 diam.

Pour faire fonctionner cet appareil, il suffit d'aplatir avec la main la poire de caoutchouc, et l'air est projeté dans le poumon de l'animal. Lorsqu'on la laisse revenir sur elle-même, les parois thoraciques, par leur élasticité, expulsent l'air qui a été projeté dans le poumon et qui se dégage par la petite ouverture ménagée à la canule[1].

La respiration artificielle a, comme nous l'avons dit, le but de maintenir les muscles à l'état vivant, tandis qu'il ne peut se produire aucun mouvement volontaire.

1. Dans cette appareil, la disposition de la canule est empruntée à Ludwig. Elle est fort ingénieuse, et elle a beaucoup simplifié les appareils à respiration artificielle. Mais, pour que le jeu en soit régulier et efficace, il faut que la quantité d'air projetée soit assez considérable en un temps donné pour que, malgré son issue à travers la petite ouverture, les poumons soient convenablement distendus. Les dimensions de l'orifice et celles de la poire en caoutchouc seront facilement réglées par quelques tâtonnements.

Pour étudier le mode de contraction des différents organes musculaires, prenons maintenant un appareil électrique d'induction (fig. 178) et réglons-le de manière qu'il donne un courant interrompu 50 fois par seconde environ; fixons les deux rhéophores de la bobine induite à une petite pince électro-physiologique dont les deux extrémités de platine sont distantes de 3 ou 4 millimètres. Ouvrons les cavités viscérales du lapin, la cavité péritonéale d'abord. Nous verrons les intestins présenter des mouvements dits péristaltiques. L'estomac, plus ou moins rempli de matières alimentaires, est immobile. La vessie, quel que soit son degré de réplétion, est aussi dans l'immobilité. On constate que le cœur, après l'ouverture de la cage thoracique, se contracte spontanément suivant son rythme habituel. Les muscles du tronc et des membres sont dans la résolution.

Essayons maintenant sur ces différents muscles l'excitation électrique directe. La pince électro-physiologique appliquée sur l'intestin n'y déter-

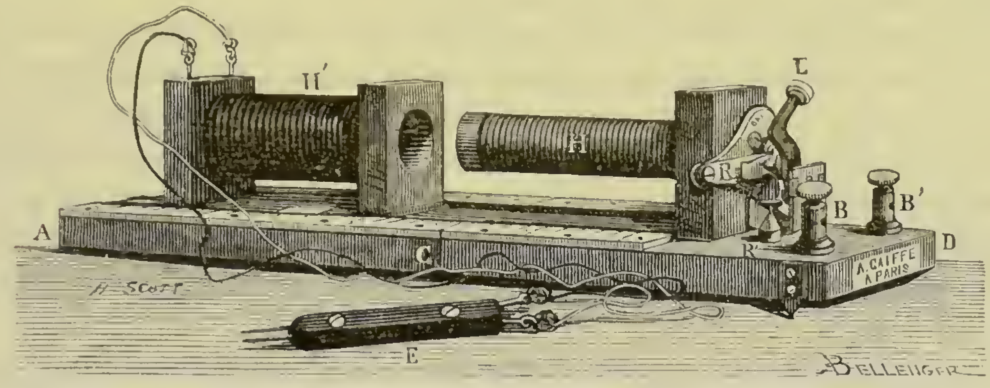


Fig. 178. — Petit appareil d'induction pour l'excitation des muscles et des nerfs.

mine pas une contraction instantanée, mais peu à peu on voit se produire entre les deux mors de la pince une dépression au niveau de laquelle les tissus de la paroi intestinale deviennent durs et pâlissent par suite de l'expulsion du sang de la région contractée. Bientôt la zone dure se déprime, s'agrandit, et la contraction se poursuit sur l'anse intestinale dans une étendue plus ou moins considérable.

Sous l'influence de la même excitation, il se produit des phénomènes analogues dans les tuniques de l'estomac et de la vessie.

Si nous éloignons la bobine induite de la bobine inductrice, de façon à avoir un courant faible, par exemple celui que l'on peut supporter aisément sur sa propre langue, et que nous appliquions ce courant interrompu faible sur les ventricules du cœur, au moment où ils sont en pleine activité, nous modifierons le rythme des contractions. Si nous employons un courant très fort, il se produira une série de contractions fibrillaires, ce qui indique que le muscle ventriculaire a perdu de sa synergie. Enfin, si l'animal est affaibli et que le muscle cardiaque ne présente plus que des contractions rares, chaque excitation électrique, si elle n'est pas trop rapprochée de la précédente, produira une contraction cardiaque.

Dans d'autres espèces animales, l'action des courants interrompus sur le

cœur est un peu différente. Chez la grenouille, un courant interrompu très fort arrête momentanément et complètement le cœur. Nous aurons du reste l'occasion d'y revenir à propos de la circulation capillaire. Chez le chien, le même courant détermine un arrêt permanent de l'organe (Panum[1] et Vulpian[2]).

L'arrêt du cœur par excitation directe est un paradoxe physiologique dont l'explication ne peut être donnée que par l'étude des terminaisons des nerfs; nous y reviendrons plus tard. Au contraire, comme nous l'avons vu un peu plus haut, lorsque le cœur est affaibli, c'est-à-dire à cette période voisine de la mort où le système nerveux ne réagit plus ou ne réagit du moins que fort incomplètement sous l'influence des excitants, tandis que les muscles ont encore leur excitabilité, un courant électrique interrompu détermine une contraction du muscle cardiaque comme s'il s'agissait d'un muscle ordinaire.

Passons maintenant aux muscles des membres.

Ils ne présentent pas tous le même aspect chez le lapin. La plupart sont blancs et translucides, mais au milieu d'eux s'en trouvent certains qui sont rouges et qui par leur coloration tranchent nettement sur les autres. En ne considérant que le membre abdominal, le muscle demi-tendineux, le crural, le petit adducteur, le carré crural et le soléaire sont rouges, tandis que la plupart des autres sont blancs. Ces deux espèces de muscles ne se comportent pas de même sous l'influence de l'agent électrique, comme nous allons le voir.

De tous les muscles rouges du lapin, celui qui convient le mieux pour cette étude est le demi-tendineux. Voici comment il faut s'y prendre pour le découvrir : la face interne de la cuisse est dénudée par une excision de la peau faite en un seul coup avec des ciseaux courbes. Le muscle droit interne étant rejeté en dedans ou incisé, on aperçoit à travers les fibres de l'extrémité inférieure du muscle grand adducteur une traînée blanche qui correspond au tendon du demi-tendineux : ce tendon est mis à nu par une incision qui, pratiquée sur les fibres du grand adducteur, est poursuivie de manière à dégager le corps du demi-tendineux. Celui-ci est alors excité directement avec un courant interrompu. Il se raccourcit peu à peu pour arriver à la contraction complète. Tant que l'excitation est continuée, il reste contracté sans communiquer de secousses à la pince électrique et à la main qui la tient. Lorsque l'excitation cesse, le muscle revient lentement à sa longueur primitive[3].

1. *Panum*, Untersuchungen über einige von den Momenten, welche Einfluss auf die Herzbewegungen, auf den Stillstand und auf das Aufhören des Contractionsvermögens des Herzens ueben. *Schmidt's Jahrbücher*, 1858, vol. 100, p. 148, sq.

2. *Vulpian*, Note sur les effets de la faradisation directe des ventricules du cœur chez le chien. *Archives de physiologie*, 1874, p. 995.

3. J'ai exposé tous ces faits dans un travail spécial (*Arch. de physiologie*, 1874, p. 5) où j'ai démontré, par une série d'expériences auxquelles je renvoie, que cette différence des muscles dans la manière de se contracter est indépendante des nerfs et tient à la substance musculaire elle-même.

Chez les poissons, on trouve aussi les deux espèces de muscles. Chez la raie, par

Les muscles blancs excités avec le même courant se contractent au contraire brusquement, et, pendant toute la durée de l'excitation, ils sont agités de secousses correspondant aux interruptions du courant. Lorsque l'excitation cesse, ils reviennent brusquement à leur longueur primitive. Malgré cette différence si marquée entre les muscles rouges et les muscles blancs du lapin, ils n'en appartiennent pas moins à la même famille, car si les muscles rouges se contractent plus lentement que les pâles, leur contraction paraît encore rapide à côté de celle des muscles du canal intestinal. Cependant ils constituent, au point de vue physiologique, une forme intermédiaire.

Nous avons constaté, au début de ces expériences sur les différentes parties du système musculaire, que l'influence du cerveau ou de la volonté étant supprimée par la section du bulbe, certains muscles, le cœur et les muscles des intestins, continuent de se contracter, tandis que les autres sont dans la résolution. Cette observation a servi à diviser les muscles en deux classes : les muscles volontaires et les muscles indépendants de la volonté. En poursuivant cette expérience, nous avons vu que chez les uns la contraction est brusque, chez les autres elle est lente, successive et s'accomplit en un temps plus ou moins long.

D'après toutes ces différences, on pourrait diviser les muscles en trois catégories : les muscles à contraction involontaire, muscles de la vie animale; les muscles à contraction involontaire et brusque, comme le muscle cardiaque ; les muscles à contraction involontaire et lente, comme les muscles des intestins, des artères.

Ce serait là une bonne classification physiologique ; mais pour l'histologiste elle serait défectueuse, parce que les muscles volontaires n'ont pas la même structure dans tous les groupes d'animaux, et que, dans un même groupe, il peut y avoir des muscles tout à fait différents du cœur et qui cependant se contractent brusquement et en dehors de la volonté. C'est ainsi que, chez le lapin, les faisceaux musculaires de l'œsophage, qui ont la structure des muscles de la vie animale, se contractent brusquement et ne sont pas soumis à la volonté.

En se plaçant uniquement au point de vue de leur structure, les muscles doivent être divisés en muscles à faisceaux striés, muscles lisses et muscle cardiaque.

MUSCLES A FAISCEAUX STRIÉS

Étude du faisceau primitif. — Un fragment de muscle, dissocié avec des aiguilles, se laisse diviser en fibres qui ont de 10 à 80 μ de diamètre et

exemple, lorsque l'on a enlevé, par dissection, la peau qui recouvre la face dorsale des nageoires latérales, on observe de petits faisceaux musculaires rouges. Chacun de ces faisceaux correspond à un intervalle entre deux arêtes cartilagineuses. Ils reposent sur des masses de muscles pâles. Les expériences que j'ai faites sur ces deux espèces de muscles m'ont prouvé qu'il y avait dans leur mode de contraction la même différence qu'entre les muscles rouges et les muscles pâles du lapin. Ces deux espèces de muscles existent chez un grand nombre d'animaux, ainsi que je l'ai montré récemment (*Des muscles rouges et des muscles blancs chez les rongeurs. Comptes rendus, Acad. des sc.*, 1887).

auxquelles on a donné le nom de faisceaux primitifs. Ces faisceaux ne sont pas difficiles à séparer, mais il est nécessaire cependant d'employer certaines précautions pour en obtenir des préparations bien nettes.

Un chien, un lapin ou tout autre mammifère étant sacrifié, on l'abandonne jusqu'à ce que la rigidité cadavérique se soit produite. Un muscle étant alors mis à découvert, on en circonscrit à la surface une petite portion au moyen d'incisions faites avec un scalpel bien tranchant ; puis on la détache en la saisissant par un coin avec une pince et en en coupant la base avec le scalpel. Cette première partie de l'opération doit être exécutée avec précaution, pour ne pas altérer les éléments délicats qui doivent être soumis à l'examen.

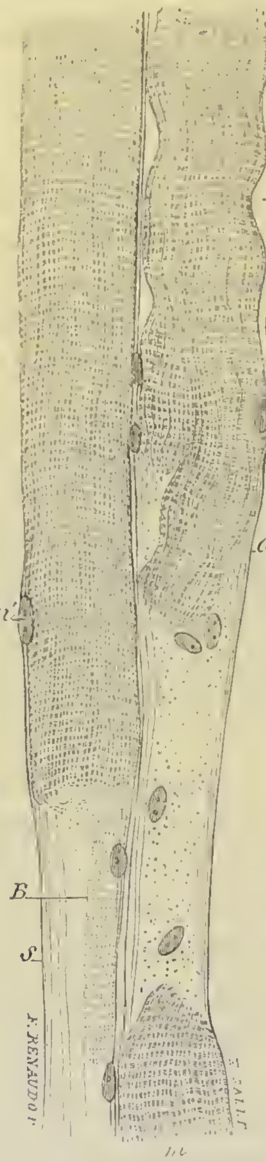


Fig 179. — Deux faisceaux musculaires du grand adducteur du chien, pris après la rigidité cadavérique, dissociés dans le picrocarminate et conservés dans la glycérine. — *m*, substance musculaire; *n'*. noyaux vus de profil: *s*. sarcolemme: *p*. espace compris entre le sarcolemme et la substance musculaire, rempli du liquide additionnel; *B*. couche mince de substance musculaire restée adhérente au sarcolemme. — 270 diam.

Il faut procéder maintenant à la dissociation. Pour cela, le fragment de muscle est porté sur une lame de verre dans une goutte de picrocarminate qui y a été déposée préalablement. Bientôt toute sa surface en est colorée en rouge plus ou moins intense, et pour le bien voir il est nécessaire de le placer sur un photophore à fond blanc (voy. p. 65). Lorsque l'on a constaté la direction des fibres musculaires, on applique les aiguilles à l'un des bouts du fragment, puis on les écarte de manière à le séparer en deux faisceaux distincts. Sur un de ces faisceaux, on agit de la même façon, les aiguilles étant toujours appliquées à la même extrémité, de manière à n'altérer les éléments qu'en ce point. On continue la dissociation en suivant toujours le même procédé, et l'on finit par obtenir des faisceaux primitifs isolés.

Examinant alors au microscope à un faible grossissement et sans recouvrir d'une lamelle, l'observateur pourra s'assurer du succès de l'opération et écarter les débris inutiles en s'aidant de l'aiguille, du pinceau ou de languettes de papier à filtrer. Lorsqu'il ne restera plus que des faisceaux primitifs isolés, bien conservés, nageant dans une faible quantité de picrocarminate, il lui suffira de recouvrir d'une lamelle, en soutenant celle-ci avec des cales de papier d'une épaisseur convenable, pour obtenir une bonne préparation. S'il veut la rendre

persistante, il substituera sous la lamelle la glycérine au picrocarminate, mais seulement quand la coloration sera complète.

On peut aussi, lorsque après un séjour d'une heure ou deux dans le picrocarminate la coloration est bien produite, laver les faisceaux avec de l'eau pure ou de l'eau distillée, recouvrir d'une lamelle et remplacer ensuite l'eau par de la glycérine contenant 1 pour 100 d'acide formique.

En plaçant la lamelle de verre sur des faisceaux primitifs isolés nageant dans un liquide, il arrive souvent qu'ils sont déplacés, enroulés, ou rejetés en dehors. A l'aide d'un tour de main, on arrive à éviter ces accidents. Pour cela, lorsque les faisceaux ont été colorés et lavés, ils sont disposés convenablement sur la lame de verre au moyen des aiguilles et du pinceau. L'excès d'eau est enlevé avec du papier à filtrer, et lorsque la dessiccation commence, ce que l'on reconnaît à l'aspect terne que prennent les éléments, ils ont contracté avec la surface sur laquelle ils reposent une légère adhérence qui permet d'ajouter une goutte de liquide et de recouvrir de la lamelle sans qu'il se produise de déplacement, si toutefois l'opération est faite avec assez de rapidité.

Examinons maintenant une préparation de faisceaux primitifs dissociés dans le picrocarminate et conservés dans la glycérine. Nous y distinguerons d'abord la striation transversale bien marquée, et la striation longitudinale beaucoup plus vague. Sur le faisceau se trouvent distribués, en nombre variable suivant les muscles que l'on étudie, des noyaux colorés en rouge. En son milieu ils paraissent ovalaires; sur ses bords ils sont également ovalaires, mais beaucoup plus minces. En réalité ces noyaux ont la forme d'un ellipsoïde aplati parallèlement à la surface du faisceau.

Sur les points du faisceau qui ont été touchés avec les aiguilles, la striation n'est plus régulière; elle est plus ou moins dérangée, et même la substance musculaire peut y être fragmentée. Ces accidents de préparation constituent des conditions avantageuses pour observer certains détails de structure. Ainsi, lorsque la substance musculaire a été déchirée d'une façon accidentelle, elle revient sur elle-même et laisse, entre les lèvres de la déchirure, un espace irrégulier rempli du liquide additionnel, dans lequel nagent des débris de la substance musculaire et parfois des noyaux devenus libres. Cet espace est limité par une membrane dont on voit le double contour sur les côtés du faisceau. Il peut se faire, par suite des manœuvres de la dissociation, que le faisceau musculaire ait subi une torsion sur son axe; cette membrane s'accuse alors par des plis disposés en tourbillon.

Cette méthode nous conduit donc à reconnaître dans le faisceau musculaire trois éléments distincts : une membrane amorphe enveloppante, en forme de tube, c'est le sarcolemme; dans son intérieur une substance striée en travers et en long, c'est la substance musculaire ou contractile; et enfin des noyaux.

Sarcolemme. — Le sarcolemme est une membrane amorphe tellement mince et tellement transparente qu'il est impossible de la distinguer lorsqu'elle est exactement appliquée sur la substance musculaire. Mais, ainsi que

nous venons de le voir, quand il s'est produit une rupture de cette substance, le sarcolemme devient manifeste.

Si des faisceaux enlevés à un muscle encore vivant sont placés sur une lame de verre et recouverts d'une lamelle, il suffit d'y ajouter de l'eau, pour la voir pénétrer par diffusion au-dessous du sarcolemme, le détacher de la substance musculaire et le soulever. Il apparaît alors sur le bord du faisceau primitif comme une ligne continue qui correspond à sa coupe optique. Si l'on ajoute de l'acide acétique, la substance musculaire se gonfle et forme, au niveau de chacune des extrémités sectionnées des faisceaux, un bourgeon irrégulier plus ou moins volumineux et vaguement strié en long. Le sarcolemme ne se laisse pas gonfler par le réactif, et, refoulé par le bourgeon, il forme immédiatement au-dessous de lui une série de plis transversaux. Pour rendre ces plis bien évidents, il faut colorer le sarcolemme avec du sulfate de rosaniline.

Plus loin, en étudiant les rapports des muscles et des tendons, nous ferons connaître une méthode à l'aide de laquelle on obtient le tube sarcolemmique isolé dans une grande étendue.

Noyaux. — Chez les mammifères, les noyaux compris entre le sarcolemme et la masse musculaire sont aplatis, comme le montre leur vue de profil.

La meilleure méthode pour les voir est celle qui a été indiquée précédemment et qui consiste à colorer au picrocarminate des faisceaux isolés, et, après les avoir lavés, à les conserver dans de la glycérine additionnée d'acide formique. Au bout de quelques jours, la préparation devient plus nette, le carmin se fixe sur les noyaux qui prennent une coloration rouge plus intense. Dans leur intérieur apparaissent un ou plusieurs nucléoles, et tout autour d'eux se montre une zone granuleuse en forme de nacelle lorsqu'elle est vue de face, et qui a été considérée par Max Schultze comme l'indice d'une masse protoplasmique dans laquelle ils seraient plongés.

Il est possible d'apercevoir les noyaux sur des faisceaux musculaires vivants, sans l'addition d'aucun réactif, mais il faut alors employer un objectif fort et à grand angle d'ouverture. La difficulté de voir nettement les noyaux musculaires sur les fibres vivantes tient à ce que leur indice de réfraction diffère très peu de ceux de la substance musculaire et du sarcolemme entre lesquels ils sont compris; ils sont alors dans les mêmes conditions optiques qu'une baguette de verre plongée dans le baume du Canada (voy. p. 11).

Les faisceaux primitifs des muscles de grenouille possèdent des noyaux non seulement sous le sarcolemme, mais encore dans leur épaisseur.

Dans les muscles rouges du lapin, le demi-tendineux, par exemple, les noyaux sont beaucoup plus abondants que dans les muscles blancs du même animal. Ils sont globuleux, groupés en séries linéaires, et font à la surface des faisceaux primitifs un relief assez marqué, ainsi qu'on peut l'apprécier quand ils se montrent de profil. Cependant ils sont logés dans des sillons tracés dans la substance musculaire, et quelques-uns d'entre eux sont même complètement englobés dans cette substance.

Substance musculaire. — La substance musculaire présente, comme nous

l'avons dit, une striation qui a fait donner aux muscles qui la possèdent le nom de muscles striés. Cette striation est double, l'une transversale et l'autre longitudinale. La forme de la striation, suivant que le muscle est en activité ou en repos, a fixé l'attention des physiologistes aussi bien que des histologistes, car on a espéré y trouver le secret de la contraction musculaire.

Il est nécessaire, pour se rendre compte des changements de disposition que la contraction produit dans les stries musculaires, d'en bien connaître l'aspect à l'état normal. Or cet aspect, comme on s'en convainc facilement par un examen attentif, n'est pas le même lorsque le faisceau musculaire est revenu sur lui-même ou lorsqu'il a été tendu. Il doit donc être observé dans ces deux états.

Pour étudier les faisceaux musculaires à l'état vivant et en extension, il faut, chez un lapin que l'on vient de sacrifier, dénuder un des muscles blancs de la cuisse, le grand adducteur par exemple. On y pratique une incision nette et peu profonde, qui doit être perpendiculaire à la direction des fibres. Alors, à l'aide d'une pince appliquée sur une des lèvres de l'incision, on arrache l'aponévrose et quelques faisceaux primitifs sous-jacents. Puis, appliquant de nouveau la pince, on peut extraire de la surface du muscle des faisceaux groupés en nombre plus ou moins considérable. A mesure qu'on les extrait, ces faisceaux qui, par une extrémité, sont tenus par la pince, restent par leur autre extrémité adhérents à la masse musculaire. On glisse alors au-dessous d'eux une lame de verre bien propre, sur laquelle ils se fixent dans un état d'extension qui variera suivant la volonté de l'opérateur. Il suffit ensuite de recouvrir d'une lamelle et de couper l'extrémité adhérente au muscle pour obtenir une bonne préparation. Pour la mettre à l'abri de l'évaporation pendant l'examen, la lamelle à recouvrir est bordée avec de la paraffine.

En examinant comparativement deux préparations, l'une où les faisceaux ont été tendus et une autre où ils sont revenus sur eux-mêmes, on reconnaît immédiatement entre eux une grande différence. Dans le muscle non tendu, les stries transversales sont très rapprochées, et il faut de forts objectifs pour les distinguer. Dans le muscle tendu, au contraire, les stries transversales sont beaucoup plus éloignées les unes des autres, et l'on aperçoit des détails qui échappent complètement dans le muscle non tendu. A un grossissement de 400 à 600 diamètres, il donne une image d'une admirable régularité. Les stries longitudinales y sont mal indiquées. Cependant elles se reconnaissent à certains détails dont il sera question bientôt.

Le faisceau primitif, complètement dégagé, a la forme d'un cylindre; mais, dans les préparations faites comme il vient d'être dit, la lamelle de verre, le comprimant légèrement, ramène à l'état plan une certaine étendue de sa surface. C'est sur cette surface que doit porter l'observation. Mettons l'objectif bien au point sur la première couche musculaire qui se présente au-dessous de la lamelle, et prenons garde de ne pas l'abaisser au delà, parce que l'image perdrait sa netteté. Nous verrons que la striation traversale n'est pas produite simplement par des bandes de même épaisseur, alternativement claires et

obscures, mais qu'elle est déterminée par des bandes claires, larges, devenant d'autant plus claires qu'on éloigne légèrement l'objectif, séparées par des bandes obscures moins larges et qui deviennent d'autant plus obscures que la bande large devient plus claire. Cette bande obscure est divisée par une strie traversale très mince qui possède les mêmes propriétés optiques que la bande claire. Si, au contraire, on rapproche l'objectif, les parties claires deviennent obscures et les parties obscures deviennent claires; la figure 180 représente un faisceau primitif vu de cette façon.

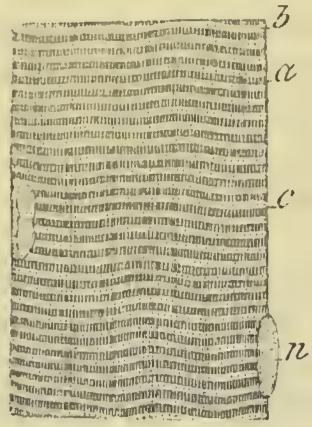


Fig. 180. — Faisceau primitif du muscle grand adducteur du lapin, examiné à l'état vivant dans son propre plasma, et à l'état d'extension. — *a*, disque épais; *b*, disque mince; *c*, espaces clairs; *n*, noyau vu de profil. 700 d.

Lorsque l'on observe un faisceau primitif qui n'a pas été soumis à l'extension, la strie *b* ne se distingue plus, et la bande *a* (fig. 180) est beaucoup moins haute. La bande claire est également moins large. Un peu plus loin nous indiquerons d'autres détails dans les fibres musculaires tendues et non tendues, en contraction ou à l'état de repos, qui nous donneront sur la striation des muscles des notions plus complètes. Mais avant d'y arriver, il importe d'étudier certains modes de préparation des faisceaux primitifs, qui nous feront mieux connaître la constitution intime de la substance musculaire.

Parmi les réactifs que l'on peut faire agir sur les faisceaux des muscles, les uns accusent la striation longitudinale et permettent même de décomposer les faisceaux en fibrilles, les autres, au contraire, rendent la striation transversale bien nette, tandis que la longitudinale disparaît plus ou moins complètement.

L'alcool dilué, l'alcool ordinaire et l'alcool absolu, l'acide picrique saturé, l'acide chromique à toutes les doses de concentration inférieures à 2 pour 1000, les bichromates de potasse et d'ammoniaque jusqu'à la dose de 2 pour 100, permettent de décomposer les faisceaux primitifs en fibrilles. Ces réactifs sont tous employés de la même façon. Un fragment de substance musculaire, enlevé comme il a été dit, est disposé le long d'une petite tige de bois et fixé en extension sur celle-ci au moyen de ligatures placées à ses deux extrémités. Le tout est plongé dans le liquide et y est maintenu jusqu'à ce que le muscle ait acquis un certain degré de rigidité. La dissociation faite au moyen des aiguilles permet alors d'isoler des faisceaux un peu volumineux comme ceux de la grenouille, ou mieux encore ceux de la raie, en fibrilles, sur lesquelles on peut encore reconnaître la striation transversale.

Parmi les réactifs qui accusent la striation transversale et peuvent même décomposer le faisceau en disques superposés, Frey indique l'acide acétique à $\frac{1}{2}$ ou 1 pour 100, l'acide chlorhydrique de 1 pour 200 à 1 pour 2000, le carbonate de potasse, le chlorure de calcium, le chlorure de baryum et

enfin le suc gastrique. De tous ces réactifs, le plus anciennement connu est certainement le suc gastrique. Tous les physiologistes qui ont étudié au microscope l'effet de la digestion artificielle sur les muscles ont observé leur décomposition en disques, décomposition sur laquelle Bowman[1] a beaucoup insisté, et c'est pour cela que l'on appelle ces disques, disques de Bowman.

Parmi les méthodes que l'on peut employer pour décomposer un faisceau primitif en une série de disques, celle qui donne les résultats les plus beaux et les moins discutables est la suivante :

Un muscle, enlevé à un mammifère que l'on vient de sacrifier étant congelé, on y pratique des coupes qui doivent être très minces et parallèles à l'axe des faisceaux. Ces coupes sont dissociées sur une lame de verre dans une goutte de picrocarminate. Dans ces préparations, les faisceaux sont décomposés en disques dont l'ensemble figure une pile de monnaie. Lorsque, sous l'influence des moyens mécaniques employés pour la dissociation, un faisceau musculaire ayant subi la décomposition discoïde a été incurvé, au niveau de la convexité les disques s'écartent les uns des autres comme les feuillets d'un livre entr'ouvert. Si l'action mécanique a été plus forte et plus irrégulière, les disques sont séparés d'une manière plus ou moins complète, et quelques-uns entièrement isolés nagent librement dans le liquide de la préparation. On y trouve aussi des fragments de faisceaux de longueur variable, formés par un ensemble de disques. A la surface de ces faisceaux, se montrent un ou plusieurs noyaux, qui semblent y être fixés par une très faible quantité de substance granuleuse.

Dans cette méthode, n'intervient aucune substance chimique active, et dès lors les résultats qu'elle fournit ne laissent aucun doute sur la décomposition des faisceaux musculaires en disques superposés. Nous avons déjà vu, à propos du sang, la congélation déterminer la dissolution de l'hémoglobine. Il est probable qu'elle agit sur les faisceaux musculaires d'une manière analogue, en dissolvant une substance qui souderait les disques les uns aux autres[2].

La substance musculaire se décomposant soit en disques, soit en fibrilles, sous l'influence de certains agents, Bowman en a conclu qu'elle n'est en réalité formée ni par des disques ni par des fibrilles, mais par des particules limitées par des plans de segmentation longitudinaux et transversaux. Il a considéré ces particules comme les organes élémentaires de la contractilité et les a désignées sous le nom de *sarcous elements*. D'après cette conception, une fibrille musculaire serait constituée par une série de *sarcous elements* placés bout à bout dans le sens longitudinal, et un disque serait formé par une seule couche de ces éléments disposés dans le sens transversal.

1. *Bowman*, Philosophical Transactions, 1840; part. 2, p. 69, et 1841, part. 1, p. 457.

2. La décomposition des faisceaux musculaires en disques peut aussi être observée dans des conditions où n'intervient aucun réactif chimique; lorsqu'un fœtus humain a été frappé de mort dans la cavité utérine, et qu'il y a séjourné encore un certain temps avant d'être expulsé, il se produit une macération sans putréfaction. Si l'on étudie les faisceaux musculaires de ces embryons dans du sérum iodé ou dans du picrocarminate, on y observe souvent une décomposition discoïde aussi marquée que celle qui se produit sous l'influence de la congélation.

Quant à la constitution intime des *sarcous elements* et à leur rôle dans la contraction musculaire, ce que nous en savons aujourd'hui repose en majeure partie sur l'observation des fibres musculaires des pattes et des ailes de l'hydrophile (*hydrophilus piceus*).

Chez cet insecte, il y a deux espèces de muscles. Ceux des ailes, que l'on met à découvert après avoir extirpé une élytre et excisé la lame dorsale de la carapace qui correspond à son insertion, apparaissent comme une masse d'un blanc mat. Ceux des pattes, au contraire, sont translucides et ont l'aspect franchement sarcomateux.

Pour examiner au microscope les muscles des ailes, il suffit d'en retrancher une petite portion avec des ciseaux courbes chez l'animal encore vivant et de les dissocier sur une lame de verre dans du sérum faiblement iodé ou dans du picrocarminate. Les faisceaux qui sont demeurés intacts se montrent comme de gros cylindres recouverts de distance en distance d'amas granuleux en forme de monticules, et garnis d'innombrables ramifications de trachées. Quant à la substance musculaire elle-même, sa striation est masquée par une quantité considérable de granulations graisseuses. La plupart des faisceaux sont plus ou moins dissociés, et l'on peut reconnaître alors qu'ils sont composés de fibrilles admirablement striées en travers, séparées les unes des autres par des granulations graisseuses et reliées en faisceaux par les ramifications des trachées. Mais il n'y a pas, autour de leur ensemble, une enveloppe analogue au sarcolemme.

Les fibrilles des ailes de l'hydrophile sont incontestablement les objets les plus nets pour l'étude de la striation musculaire. La facilité de les observer isolées sans qu'elles aient subi aucune altération permet de distinguer mieux qu'ailleurs le détail des dispositions élémentaires et de se rendre mieux compte ensuite, par comparaison, de la structure sinon semblable, du moins analogue des autres muscles. Celle de ces fibrilles qui se trouvent tendues par un hasard de préparation donnent des images très nettes et très régulières qu'on s'accorde à considérer comme normales. Lorsqu'un objectif donnant un grossissement de 600 à 1000 diamètres est mis au point sur les bords de la fibrille, on y voit une série de bandes alternatives obscures et claires, qui rappellent la disposition des faisceaux primitifs examinés à l'état de tension sans addition d'aucun liquide (fig. 180). Une série de bandes obscures à peu près aussi longues que larges sont séparées les unes des autres par des bandes claires, et ces dernières sont traversées en leur milieu par une strie qui a les mêmes qualités optiques que la bande obscure. En effet, si l'on éloigne l'objectif, les bandes qui étaient obscures deviennent claires, et celles qui étaient claires deviennent obscures. Nous désignerons la bande obscure dont nous avons parlé tout d'abord sous le nom de *disque épais*, la strie qui divise la bande claire sous le nom de *disque mince*.

C'est ainsi que, dans une fibrille considérée suivant sa longueur (A et B, fig. 181), nous trouverons successivement un disque épais, une bande claire, un disque mince, une nouvelle bande claire et de nouveau un disque épais. Lorsque les fibres ont été préparées avec du picrocarminate et qu'elles y ont

séjourné au moins une semaine, les disques épais et les disques minces présentent une coloration rouge, tandis que les espaces clairs sont incolores.

Tels sont les faits que l'on observe en employant des objectifs à grand angle d'ouverture, en mettant le miroir qui sert à éclairer l'objet exactement dans l'axe optique de l'instrument et en n'employant pas de diaphragme. Si au contraire nous mettons au-dessous de l'objet un diaphragme très petit et si nous l'éloignons un peu de manière à ombrer le champ, il se produira immédiatement des phénomènes de diffraction qui modifieront l'image d'une manière plus ou moins considérable.

Si l'on poursuit l'observation dans ces conditions, en employant un bon objectif à immersion donnant 600 à 800 diamètres, et qu'après l'avoir mis exactement au point on l'éloigne un peu, de manière à faire apparaître brillants les disques épais, on y voit se dessiner de nouvelles stries. Sur les fibrilles les plus larges, celles par exemple qui ont 3 à 4 μ de diamètre, il se produit sur chaque disque épais deux stries longitudinales et deux stries transversales (D, fig. 181). Sur les plus minces, par exemple celles qui n'ont que 2 μ de diamètre, il se montre sur les disques épais seulement deux raies perpendiculaires entre elles (C, fig. 181), se rencontrant au centre du disque et y dessinant une croix.

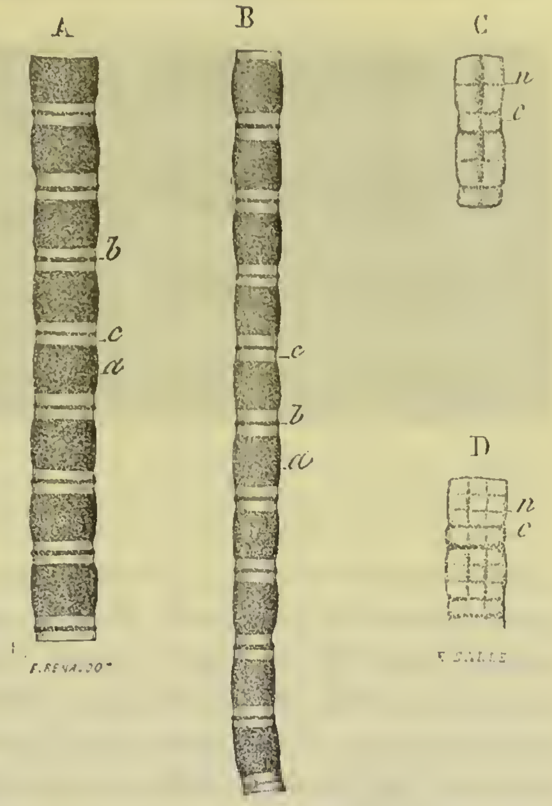


Fig. 181. — Fibrilles des ailes de l'hydrophile, préparées et conservées dans le picrocarminate à 1 pour 100. — A et B. Deux de ces fibrilles de différents diamètres à l'état d'extension; *a*, disque épais; *b*, disque mince; *c*, espace intermédiaire. — C et D, portions de ces fibrilles vues en éloignant l'objectif et avec un petit diaphragme; *n*, disque épais; *c*, disque mince. — 2000 diam.

Ces stries ne correspondent pas à une disposition anatomique; elles sont un simple jeu de lumière. Ce sont des phénomènes de diffraction, analogues à ceux qui se produisent autour d'une boule de graisse. En effet, si au lieu de la lumière blanche on emploie une lumière monochromatique jaune, comme on l'obtient en faisant brûler de la soude dans un fort bec de gaz à double courant, ces stries de diffraction s'accentuent et paraissent comme de véritables raies noires tracées à la plume. C'est là une preuve que ce sont bien des phénomènes de diffraction, car on sait que tous les phénomènes de ce genre sont exagérés lorsque pour les produire on emploie la lumière jaune (voy. p. 16).

Tout ce que nous venons de dire de la fibrille de l'aile de l'hydrophile s'applique seulement à celles de ces fibrilles qui sont en extension. Celles qui ne sont pas tendues fournissent une image bien différente. Les espaces clairs

ne s'y voient pas et les disques épais sont séparés les uns des autres par le disque mince, reconnaissable à sa forte réfringence (A, fig. 182); sur certains même, il a complètement disparu, et la fibrille paraît homogène. Quelquefois elle est revenue sur elle-même de telle sorte que le disque épais, renflé à sa partie moyenne, semble comme tassé suivant sa longueur (C, fig. 182). Il en résulte que la fibrille tout entière a un aspect moniliforme. Enfin il arrive que les stries de la fibre, au lieu d'être transversales, sont obliques (B et E, fig. 182). Cette disposition a été décrite et figurée comme normale par Dujardin[1], qui l'avait observée sur les fibrilles musculaires des crustacés. Il s'agit probablement d'un artifice de préparation, ainsi qu'on peut le reconnaître en étudiant attentivement des fibrilles des ailes de l'hydrophile ; lorsqu'une de ces fibrilles, par suite de la dissociation, a été repliée sur elle-même de manière à former un arc, les stries ne sont plus parallèles, et, si des fibres se sont mêlées les unes aux autres, il arrive très souvent que l'une d'elles, qui était d'abord rectiligne et avait des stries parfaitement transversales, en possède de plus ou moins obliques, lorsqu'elle a été déviée de sa direction. Accrochée à ses voisines en divers points, elle a subi une tension irrégulière agissant en sens inverse sur chacun de ses bords, et dont le résultat est nécessairement une modification dans la direction des stries.

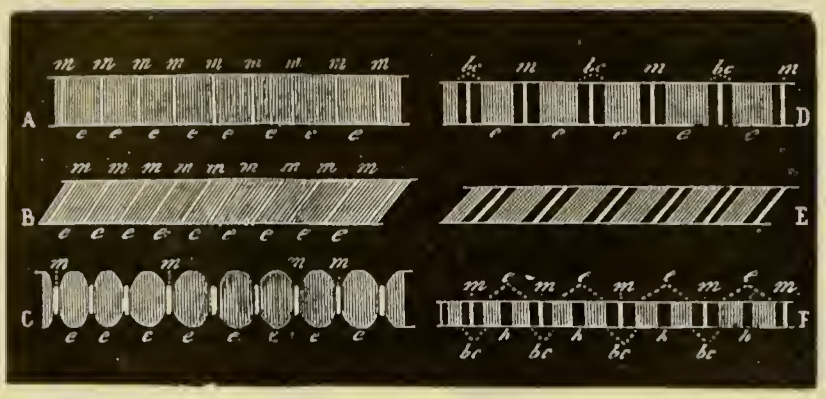


Fig. 182. — Divers aspects fournis par la fibrille des muscles de l'aile de l'hydrophile à différents degrés de tension. — *mm*, disques minces; *ee*, disques épais; *bc*, bandes claires; *hh*, strie intermédiaire ou de Hensen.

Il est une dernière image que présentent les fibrilles de l'aile de l'hydrophile lorsqu'elles sont bien tendues. Le disque épais est divisé transversalement en deux parties égales par une série claire, difficile à voir, et qui a été indiquée pour la première fois par Hensen[2] (F, fig. 182). Nous la désignerons sous le nom de strie intermédiaire.

Pour rendre bien évidents tous les détails de la structure des fibrilles musculaires de l'aile de l'hydrophile, il est nécessaire de les colorer avec le picrocarminate ou avec l'hématoxyline. Mais le picrocarminate, même en

1. *Dujardin*. L'Observateur au microscope, 1842; Atlas. Pl. III, fig. 22.

2. *Hensen*. Ueber ein neues Structurverhæltniss der quergestreiften Muskelfaser (*Arbeiten des Kieler physiol. Instituts*, 1868, p. 1). Nous ne connaissons le travail de Hensen que par un compte rendu de F. Boll (*Centralblatt*, 1868, p. 853). Il en résulte que Hensen a réellement observé dans le disque épais biréfringent une strie transversale monoréfringente. D'après lui, cette strie correspond à un disque, mais cette manière de voir ne peut s'appuyer sur l'observation ni des fibres musculaires vivantes, ni des fibres colorées soit avec le picrocarminate, soit avec l'hématoxyline.

suivant les indications que nous avons données plus haut, ne produit jamais une forte coloration. Les différences de teinte ne sont pas suffisamment accusées, et, pour cet objet, l'hématoxyline présente sur le picrocarminate de grands avantages. Pour réussir, il faut procéder de la manière suivante : un ou deux faisceaux des muscles des ailes étant enlevés sur l'animal vivant, puis placés sur une lame de verre, y sont rapidement dissociés avec les aiguilles sans y ajouter aucun liquide et en s'aidant de la demi-dessiccation qui permet de fixer à mesure et de tendre plus ou moins complètement les fibrilles séparées. Pour éviter dans cette opération la dessiccation complète, il convient d'humecter à mesure et légèrement, au moyen de l'haleine. On dépose alors sur les fibrilles dissociées deux ou trois gouttes d'une solution d'hématoxyline riche en matière colorante et anciennement préparée[1].

Quelques minutes suffisent pour lui donner une coloration violette très foncée, et, comme elles sont fixées sur la lame de verre par la demi-dessiccation qui a été préalablement employée, on les lavera sans les détacher au moyen d'un filet d'eau qui entraînera la solution d'hématoxyline.

Ces fibrilles, traitées alors par l'alcool absolu et l'essence de girofle, se conservent bien dans le baume du Canada et constituent de fort belles préparations. Les disques épais et les disques minces y sont colorés en violet; les épais toujours d'une manière plus intense. Les bandes claires y sont incolores. Il en est de même de la strie intermédiaire, visible seulement dans les fibrilles fortement tendues. Cette strie, qui semble formée par une substance semblable à celle qui existe au niveau des bandes claires, se montre d'une manière beaucoup plus constante et paraît beaucoup plus large si les faisceaux musculaires, avant d'être soumis à la dessiccation et à la teinture, ont séjourné vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers (*h*, fig. 185). Cela tient à ce que l'alcool a fixé la substance qui compose les disques épais, de telle sorte qu'elle ne tend plus par son élasticité à combler l'espace qui se forme en leur milieu (strie intermédiaire) lorsqu'on les a tendus.

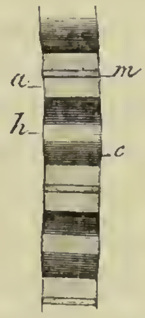


Fig. 185. — Fibrille de l'aile de l'hydrophile, dissociée par la demi-dessiccation après un séjour de vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers. Coloration à l'hématoxyline. — *c*, disque épais; *m*, disque mince; *a*, espace clair; *h*, strie intermédiaire. 2000 diam.

Les fibres musculaires des pattes de l'hydrophile présentent de très notables différences avec celles des ailes. Pour les étudier, il faut procéder de la façon suivante : une patte étant enlevée par arrachement à l'animal, on coupe avec un scalpel la carapace de l'article le plus large, de manière à mettre à nu les fibres musculaires. Le tendon chitinisé et lamelleux sur lequel elles s'insèrent est alors

[1] Cette hématoxyline est préparée par le procédé de Boemer (p. 91). Le mélange de la solution alcoolique d'hématoxyline et de la solution d'alun produit une solution faiblement colorée et d'un violet brunâtre. Mais, dans les jours qui suivent, elle prend une teinte violette plus franche, en même temps qu'il s'y produit un dépôt pailleté. C'est seulement lorsqu'elle a subi ces modifications qu'elle convient pour la coloration des fibrilles musculaires. Il faut filtrer la liqueur immédiatement avant d'en faire usage.

détaché avec des ciseaux. A l'aide d'une pince, on l'enlève avec les fibres qui lui sont attachées. Le tout est porté sur une lame de verre, dans une goutte de lymphe qui s'est écoulée de la blessure produite par l'arrachement de la patte : une lamelle étant ajoutée et bordée à la paraffine, on obtient une préparation très propre à l'étude des faisceaux musculaires à l'état vivant.

Le sérum iodé et le picrocarminate sont employés avec avantage lorsque l'on veut examiner certains détails de structure. Enfin on peut aussi, après avoir détaché la patte de l'animal, la plonger dans l'alcool absolu et, quelques heures après, en extraire des faisceaux musculaires qui, montés dans le baume du Canada, fournissent de bonnes préparations pour l'observation des muscles à la lumière polarisée. Cependant elles ne valent pas, même pour cette étude, celles des muscles vivants.

Les faisceaux primitifs des muscles des pattes ne se dissocient pas aussi facilement en fibrilles que ceux des ailes. Du reste, leur constitution est absolument différente de celle de ces derniers; elle est semblable à celle des muscles des mammifères, des muscles blancs du lapin en particulier. On y distingue un sarcolemme, des noyaux sous-jacents et une masse musculaire continue sans granulations graisseuses, avec une admirable striation transversale et longitudinale.

Les stries longitudinales séparent assez nettement les uns des autres les disques épais; ils sont plus longs que ceux des fibres des ailes et figurent des bâtonnets rangés régulièrement les uns à côté des autres. A un grossissement de 200 à 300 diamètres, lorsque l'objectif est un peu au delà du point, les disques minces apparaissent dans l'espace clair comme autant de grains brillants. A un grossissement plus considérable, 500 à 600 diamètres, on y observe les mêmes caractères que dans les fibres des ailes.

Ce grossissement permet de reconnaître dans les fibres fortement tendues, surtout lorsqu'elles ont été fixées dans cet état au moyen de l'alcool, quelques détails de structure que nous n'avons pas indiqués à propos des fibrilles des ailes, car ils se montrent seulement, au moins d'une manière nette, dans les fibres musculaires que nous considérons en ce moment et dans quelques autres que nous signalerons à mesure. Le disque épais, au lieu d'être formé de deux pièces distinctes séparées par la strie intermédiaire, paraît composé d'un plus grand nombre de pièces superposées, le plus souvent trois : une centrale et deux terminales. Ces deux terminales ont été désignées par quelques auteurs (Merkel[1], Flœgel[2], Frédéricq[3]), sous le nom de disques accessoires. Brücke[4] avait déjà décrit et figuré cette disposition, et, l'observant par hasard sur certaines fibres, il supposait qu'elle était en rapport avec l'état du muscle au moment de sa mort. Mais il est facile de s'assurer qu'elle

1. *Merkel*, Der quergestreifte Muskel (*Arch. f. micr. Anatomie*, 1872, p. 244).

2. *Flœgel*, Ueber die quergestreiften Muskeln der Milben (*Arch. f. micr. Anat.*, VIII, 1872, p. 69).

3. *Frédéricq*, Génération et structure du tissu musculaire. Bruxelles, 1875.

4. *Brücke*, Untersuchungen über den Bau der Muskelfasern mit Hülfe des polarisirten Lichts (*Mém. de l'Acad. des sciences de Vienne*, t. XV, 1858).

dépend du degré d'extension et qu'elle ne se montre que sur les fibres qui sont fortement tendues.

Chez d'autres insectes, on peut reconnaître dans les disques épais, lorsque les fibres sont bien tendues, un nombre encore plus considérable de pièces. Il y a même des muscles où cette disposition est tellement nette qu'il n'est pas nécessaire pour la voir que les fibres soient en extension. Dans ce cas, est la tunique musculaire du jabot de la blatte orientale, insecte que l'on peut se procurer facilement en toute saison chez les boulangers. Pour en obtenir de bonnes préparations, il faut procéder de la manière suivante : l'animal étant fixé sur une lame de liège, on introduit entre deux articles de sa carapace la pointe de la canule d'une seringue hypodermique, contenant une solution d'acide osmique à 2 pour 100. En poussant l'injection, on remplit toute la cavité lacunaire de l'animal, et tous les organes se trouvent baignés dans l'acide osmique qui en fixe les tissus. L'insecte est alors ouvert sous l'eau ; le jabot, qui se présente sous la forme d'un grand sac placé immédiatement au-dessous des glandes salivaires et occupant une notable partie du corps, est détaché et fendu dans sa longueur. Des fragments de sa paroi sont étendus sur une lame de verre et dissociés avec des aiguilles de manière à en séparer autant que possible l'épithélium et la cuticule qui adhèrent à sa face interne. Les lambeaux de la tunique musculaire ainsi isolés sont disposés régulièrement sur la lame de verre dans un mélange de picrocarminate et de glycérine, au sein duquel leur coloration se produit progressivement. Les faisceaux musculaires qui composent cette tunique sont aplatis, rubanés, anastomosés les uns avec les autres par des branches obliques étroites. Leur grande minceur en rend l'observation facile et précise. Voici quelle est leur constitution : entre deux disques minces qui, suivant l'observation d'Amici, sont reconnaissables au resserrement annulaire du sarcolemme à leur niveau, le disque épais se trouve composé de cinq parties distinctes : deux disques terminaux accessoires au voisinage des disques minces, séparés d'eux par des bandes claires, et trois pièces centrales. Les deux disques terminaux sont les parties les plus réfringentes, de telle sorte qu'elles paraissent les plus lumineuses lorsqu'on éloigne légèrement l'objectif après l'avoir mis au point.

Du reste, le nombre des pièces qui composent un disque épais paraît variable suivant les muscles, et il est fort probable qu'il varie en effet. Plus loin, en donnant la théorie de la contraction musculaire qui nous paraît la plus probable, nous reviendrons sur ces détails de structure pour montrer que la décomposition du disque épais a une certaine importance au point de vue physiologique.

A la lumière polarisée, un faisceau musculaire de la patte de l'hydrophile, tendu de manière à montrer nettement tous ses détails de structure et placé sur champ noir, paraît lumineux, excepté dans deux positions perpendiculaires entre elles. Il se comporte comme un tendon ou un poil. Seulement toutes ses parties constituantes ne rétablissent pas la lumière au même degré. Lorsque, pour faire cette observation, on emploie un fort grossissement, afin

de distinguer les détails de structure du faisceau musculaire, on reconnaît que ce sont les disques épais et minces qui deviennent brillants, tandis que les bandes intermédiaires transversales ou longitudinales restent obscures, quelle que soit du reste l'orientation du faisceau.

Brücke[1] s'est appuyé sur cette observation pour établir qu'il y a dans les muscles deux substances différentes, l'une monoréfringente et l'autre biréfringente; la dernière seule serait douée de contractilité.

Lorsque l'on place sous la préparation une lame de gypse, de manière à colorer le champ du microscope, les parties biréfringentes, c'est-à-dire les disques, prennent une couleur complémentaire, verte si le champ est rouge, violette si le champ est jaune, etc. Brücke monte d'ordinaire ses préparations sur une lame de gypse et obtient ainsi de très jolis objets d'étude.

Nous n'avons pas besoin de l'examen du faisceau musculaire à la lumière polarisée pour savoir que les disques ont d'autres propriétés optiques et une autre constitution chimique que la substance qui les sépare, puisque nous avons vu certains réactifs les colorer différemment. De plus, l'observation à la lumière polarisée ne saurait nullement établir à elle seule l'existence de deux substances différentes dans la fibre musculaire. En effet, nous avons vu plus haut, dans les généralités sur l'emploi de la lumière polarisée en histologie (p. 55), qu'une telle conclusion n'est pas rigoureuse, ces différences pouvant dépendre simplement d'un état de compression plus ou moins grand dans une seule direction.

Se fondant sur les phénomènes qu'il avait observés dans les muscles à la lumière polarisée, Brücke a cherché à pénétrer la structure intime de l'élément musculaire, et pour le faire, il s'est appuyé sur la théorie de Bartholin. Comme on le sait, Bartholin a découvert (1669) dans les prismes naturels de spath d'Islande le phénomène de la double réfraction; pour l'expliquer, il supposait qu'un prisme de spath est constitué par une quantité innombrable de petits prismes semblables juxtaposés, auxquels il donnait le nom de disdiaclastes. De même, Brücke admet que les disques musculaires épais et minces sont formés par un grand nombre de petits grains juxtaposés et superposés qu'il appelle également disdiaclastes. Il ne s'agit pas là d'une réalité anatomique, mais d'une simple vue de l'esprit.

THÉORIES DE LA CONTRACTION

Nous arrivons maintenant à l'exposé des différentes théories qui ont été émises sur le mécanisme intime de la contraction musculaire. Commençons par la théorie de Brücke.

Lorsqu'un faisceau primitif est en repos et à l'état d'extension, les disques présentent leur plus grande longueur. Les disdiaclastes seraient alors groupés en séries longitudinales, en colonnes, pour ainsi dire. Quand la contraction se produit et que le faisceau primitif devient plus court et plus épais, chaque

1. *Brücke*, Muskelfasern im polarisirten Lichte (*Stricker's Handbuch*, p. 174).

disque subit une modification dans le même sens, et les disdiaclastes changeraient d'ordre de bataille pour se présenter de front; ils diminueraient ainsi la longueur du disque et par suite celle du faisceau musculaire.

Cette conception est fort ingénieuse, mais l'existence des disdiaclastes n'étant établie par aucune observation directe, la théorie qui repose sur leur déplacement n'a en réalité aucun fondement.

Le besoin d'expliquer la contraction musculaire a du reste conduit beaucoup d'histologistes à des interprétations ingénieuses, et même chaque observation nouvelle sur les parties élémentaires de la substance musculaire a amené avec elle une nouvelle théorie de la contraction.

Ainsi Krause[1], partant de l'observation de la strie obscure qui divise en deux parties égales l'espace clair compris entre les disques épais et que nous avons appelé disque mince, observation faite déjà par Amici[2], a supposé que l'espace compris entre deux disques minces est une boîte limitée par une membrane et remplie d'un liquide dans lequel flotte un prisme qui correspondrait à ce que nous avons appelé le disque épais. Il donne à la boîte le nom de case musculaire et au disque le nom de prisme musculaire. Cela posé, voici quel serait le mécanisme de la contraction :

Pendant le repos, le liquide de la case musculaire serait accumulé aux deux extrémités du prisme, et le faisceau posséderait alors sa plus grande longueur. Au moment de la contraction, le liquide de la case passerait sur les côtés du prisme, de telle sorte que les différents prismes disposés en séries longitudinales ne seraient plus séparés que par l'épaisseur des cloisons qui limitent les cases. Dès lors le faisceau tout entier serait raccourci.

Plus récemment, se fondant sur l'observation de la strie qui divise transversalement en deux parties égales le disque épais, strie intermédiaire ou de Hensen, Merkel[3] a présenté une nouvelle théorie de la contraction musculaire. Il admet que cette strie représente une cloison; il admet également avec Krause que le disque mince est une cloison, de telle sorte que la case musculaire de Krause serait constituée en réalité par deux cases superposées. Quant à la substance contenue dans chacune de ces cases, elle ne serait pas formée d'une masse solide et d'une partie liquide, mais d'une matière épaisse et cependant mobile. Dans un muscle à l'état de repos, cette matière serait accumulée des deux côtés de la strie intermédiaire et constituerait le disque épais. Dans un muscle contracté, au contraire, cette substance s'éloignerait de la strie intermédiaire et viendrait peu à peu s'accumuler contre le disque mince. A une certaine période de la contraction, il arriverait que cette substance remplirait uniformément toute la case, et que l'on ne verrait plus aucune striation. Lors même qu'on admettrait le fait, il n'expliquerait en rien la contraction musculaire, puisqu'un simple rapport de matière d'une extrémité à l'autre d'une case ne pourrait pas produire un raccourcissement. Nous

1. *Krause*, Ueber den Bau der quergestreiften Muskelfaser (*Zeitschr. f. ration. Medicin*, 1868, p. 265 et 1869, p. 111).

2. *Amici*, Ueber die Muskelfaser (*Arch. de Virchow*, t. XVI, 1859, p. 414).

3. *Merkel*, Loc. cit.

reviendrons tout à l'heure sur cette théorie en parlant des phénomènes que l'on observe en réalité.

Pour être complet, signalons en passant la théorie suivante : frappé de la forme en spirale que prend le style d'insertion de la vorticelle, lorsque cet infusoire revient brusquement à son point d'attache, Rouget[1] pensa que dans ce phénomène il pourrait trouver la clef du mécanisme de la contraction, et il supposa qu'une fibrille musculaire est constituée comme le style de la vorticelle. Cette comparaison d'un élément anatomique avec un organe complexe n'est pas rigoureuse; pour donner quelque fondement à cette théorie, il aurait fallu établir que les fibrilles musculaires sont en spirale. C'est ce que l'auteur a essayé de faire, mais il a été trompé par les images que fournissent les fibrilles de l'aile de l'hydrophile, lorsqu'elles ont subi des torsions ou qu'elles sont revenues sur elles (voy. p. 576). Nous sommes convaincu que, lorsque Rouget aura observé des fibrilles musculaires de l'aile de l'hydrophile colorées au carmin ou à l'hématoxyline, il abandonnera complètement sa manière de voir.

Du reste, alors même que les fibrilles musculaires seraient en spirales et qu'elles agiraient comme une spire de laiton, ce qui n'est pas possible, puisqu'elles sont formées par une substance molle, leur raccourcissement au moment de la contraction ne serait nullement expliqué.

Avant de discuter la valeur de toutes ces théories, il convient d'observer un faisceau primitif vivant en état de contraction. Cette observation peut être faite sur les muscles des pattes de l'hydrophile examinés, soit dans la lymphe de l'animal, comme nous avons dit plus haut, soit dans de l'albumine pure de l'œuf de poule, comme l'a conseillé Merkel[2]. Dans ces conditions, les faisceaux musculaires isolés présentent de temps en temps des contractions spontanées. Sur un point du faisceau apparaît un nœud épais dans lequel la substance musculaire possède des stries beaucoup plus rapprochées que dans le reste de l'étendue de ce faisceau. Ce nœud grossit, en attirant à lui une partie de la substance musculaire placée à ses deux extrémités, puis il se déplace tantôt dans une direction, tantôt dans une autre, en formant comme une sorte d'onde qui parcourt le faisceau dans sa longueur.

Cette première observation est facile, parce qu'elle peut se faire à l'aide d'un faible grossissement (100 à 300 diamètres), mais lorsque l'on emploie un objectif plus fort (400 à 600 diamètres) pour étudier les phénomènes qui se produisent dans les éléments musculaires (disques et espaces clairs), au moment où la contraction survient, on rencontre de très grandes difficultés parce que, le faisceau se gonflant au niveau du nœud de contraction, la partie qu'il importe de bien voir n'est plus au point et n'offre dès lors qu'une image confuse.

En ce qui regarde les phénomènes intimes de la contraction observables au microscope, la seule chose que puisse affirmer un observateur consciencieux, c'est que, dans les parties revenues sur elles-mêmes par contraction,

1. *Rouget*, Journal de la physiologie, t. VI, 1863, p. 695.

2. *Merkel*, Loc. cit.

les disques épais sont devenus moins hauts, qu'ils sont plus rapprochés les uns des autres et qu'ils sont seulement séparés par les disques minces, les espaces clairs ayant disparu.

Vers la fin de l'observation, lorsque la contraction des faisceaux primitifs a perdu beaucoup de son énergie, on peut observer, sur certains de ces faisceaux à moitié contractés, que les disques épais, dont la forme est celle d'un bâtonnet, sont devenus obliques à l'axe du faisceau, cette obliquité pouvant être dans deux sens différents pour deux rangées voisines de ces bâtonnets. Amici[1], qui avait reconnu cette inclinaison des disques épais sur les muscles de la patte de la mouche, avait cru pouvoir y trouver l'explication du raccourcissement du muscle et de son augmentation de diamètre transversal au moment de la contraction. Cette inclinaison est, au contraire, un phénomène passif et accessoire, c'est-à-dire qu'au moment où il se produit dans un faisceau une zone de contraction, les régions voisines sont tiraillées en divers sens. Il en résulte un déplacement de leurs parties élémentaires qu'il ne faut pas attribuer à leur contraction.

Tous les auteurs qui ont examiné des fibres musculaires détachées vivantes ont été dans un grand embarras quand ils ont voulu indiquer nettement les modifications qui se produisent dans les différentes parties du faisceau musculaire, au moment où de l'état de repos il passe à l'état de contraction. Aussi ont-ils cherché des moyens détournés pour arriver à la solution du problème qu'ils se proposaient.

Ainsi Merkel, ayant plongé un insecte vivant dans l'alcool absolu, a constaté, après l'action complète du réactif, que les faisceaux musculaires montrent, en certains points de leur longueur, des nœuds fixes semblables à ceux qui constituent les ondes de contraction sur les faisceaux vivants. Il a conclu de cette observation que ces nœuds ont une structure absolument semblable à celle d'un muscle contracté, et, en étudiant la disposition de la substance musculaire au niveau de ces renflements et dans le reste de l'étendue de la fibre, soit dans les parties complètement relâchées, soit dans les parties intermédiaires, il a cru pouvoir édifier la théorie dont nous avons parlé plus haut et soutenir ainsi que dans la contraction il se produit une inversion complète (voy. p. 381).

Cette théorie du changement de structure ou de l'inversion a rencontré de nombreux contradicteurs, même parmi ceux qui ont suivi le procédé de l'auteur. A ce propos, il convient de citer Engelmann[2], qui, tout en combattant Merkel, a édifié une théorie particulière. Il suppose que les bandes claires correspondent à une substance liquide qui, au moment de la contraction, pénètre dans les disques épais, en les imbibant. Entre la théorie d'Engelmann et celle de Krause (voy. plus haut), il y a des analogies et des différences. L'un et l'autre expliquent le raccourcissement du muscle par la disparition du liquide des espaces clairs; mais, tandis que Krause soutient

1. *Amici*, Loc. cit.

2. *Engelmann*, Microsc. Unters. über die quergestr. Muskelsubstanz (*Pflüger's Archiv*, 1873. p. 33).

que les disques épais ne subissent aucune modification, ni dans leur forme, ni dans leur volume, et par conséquent ne sont pas contractiles, Engelmann, au contraire, croit qu'ils sont les agents essentiels de la contraction.

Depuis le mémoire de Merkel, aucun des histologistes qui ont observé la contraction musculaire n'a adopté sa manière de voir, et cependant personne n'a pu encore la réfuter complètement.

De là la nécessité d'un autre mode de recherches. Nous allons exposer celui que nous avons imaginé, mais avant d'y arriver il importe de faire remarquer que, si un faisceau musculaire peut se contracter par ondes successives, comme il a été dit plus haut à propos des fibres musculaires vivantes, il peut aussi subir, sous l'influence d'un excitant, une contraction totale et simultanée. Aeby[1], qui a introduit la notion exacte de l'onde dans la physiologie musculaire, a remarqué que, lorsqu'on excite un muscle en un point limité, les ondes se produisent à partir de ce point. Lorsque, au contraire, l'excitation se fait par le nerf, ou que le muscle est excité dans son entier par des électrodes appliquées à ses deux extrémités, il se contracte simultanément dans toute sa longueur et ne présente aucune trace d'ondes successives.

On pourra donc déterminer dans un muscle une contraction permanente ou tétanique, en faisant passer dans toute sa longueur un courant d'induction à interruptions fréquentes.

La tétanisation se produit dans un muscle maintenu en extension aussi bien que dans un muscle abandonné à lui-même. C'est là un point important, comme on le verra tout à l'heure. Nous devons considérer à un muscle quatre états physiologiques : il peut être tendu et au repos; tendu et contracté; revenu sur lui-même et au repos; revenu sur lui-même et contracté. Quel est le rapport des différentes parties de la substance musculaire dans ces quatre états? Telle est la question qui se présente et qu'il faut résoudre d'abord, pour arriver à connaître les changements qui se produisent pendant la contraction.

L'acide osmique nous en fournit le moyen. Ce réactif, mis en présence des tissus, les fixe instantanément dans leur forme[2]. Seulement il est nécessaire qu'il soit mis en rapport direct avec les éléments. C'est ce qu'on obtient par des injections interstitielles au moyen d'une seringue hypodermique, munie d'une canule en or. L'acide osmique, introduit par ce moyen dans un muscle à l'un des différents états indiqués plus haut, fixera les parties de la sub-

1. *Aeby*, Ueber die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Muskelzuckung (*Arch. f. Anat. u. Physiol.*, 1860, p. 253),

2. Parmi les nombreux faits qui établissent cette propriété de l'acide osmique, il en est un qui est vraiment saisissant. Une hydre d'eau douce, placée dans 5 ou 6 centimètres cubes d'eau, présente au bout d'un instant des mouvements variés. Son corps s'allonge, certains de ses tentacules se déploient, d'autres reviennent sur eux-mêmes, etc. Si, au moment où l'animal est en pleine activité, on laisse tomber sur lui, au moyen d'un tube en verre ouvert à ses deux extrémités et que l'on plonge dans le liquide, une ou deux gouttes d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100, l'animal est instantanément fixé dans sa forme et peut être conservé en préparation persistante en suivant un des procédés connus.

stance contractile et nous permettra de les conserver pour étudier à loisir leurs formes et leurs rapports.

Pour ces expériences, il ne faut pas choisir des insectes. Les muscles blancs et les muscles rouges du lapin sont, au contraire, très convenables; ils doivent être préférés, pour cette étude, à ceux de la grenouille dont les stries sont beaucoup trop rapprochées. Les muscles de la tortue mauresque, si répandue aujourd'hui, sont aussi très bons pour ce genre de recherches.

Étudions d'abord, en les comparant, un muscle revenu sur lui-même et un muscle en extension. Pour fixer le muscle revenu sur lui-même, on dénude sur la patte du lapin un muscle quelconque, le grand adducteur par exemple, puis on place le membre dans une position telle que ce muscle soit à son maximum de raccourcissement. On y enfonce alors obliquement la canule de la seringue hypodermique et on y injecte quelques gouttes de la solution osmique.

Quatre ou cinq minutes après, les parties du muscle où l'acide osmique a pénétré sont reconnaissables à leur couleur foncée; on les enlève et on les dissocie dans l'eau. Cette dissociation se fait avec la plus grande facilité. Les faisceaux musculaires primitifs ainsi isolés sont disposés régulièrement sur une lame de verre et recouverts d'une lamelle. Ils présentent à l'examen une striation transversale très nette, produite par l'alternance de stries claires et foncées, comme dans une onde de contraction des fibres musculaires des pattes de l'hydrophile; il est impossible d'y distinguer aucun autre détail. Notons en passant que l'on n'y remarque aucune onde de contraction; la fibre est uniformément striée.

Pour fixer par le même réactif un muscle en extension, le procédé opératoire est absolument le même, excepté que l'on place le membre de l'animal de façon que le muscle où pénétrera l'acide osmique soit à son maximum d'extension. Il est nécessaire de le maintenir fortement dans cette position, autrement la douleur produite par l'injection porterait l'animal à le déplacer. Sur le muscle ainsi fixé en extension par l'acide osmique, il est facile d'observer tous les détails de la striation musculaire; disques minces, espaces clairs, disques épais. Ils se montrent avec la plus admirable netteté sur toute la longueur de la fibre. Ici on ne remarque pas d'ondes de contraction.

Arrivons maintenant au muscle contracté pendant l'extension. Pour obtenir ce résultat, nous opérons comme précédemment. Nous maintenons le membre dans une position telle que le muscle sur lequel nous devons agir soit bien tendu. Nous introduisons dans le muscle, au niveau d'une de ses insertions, un fil métallique qui constitue une des électrodes d'une machine d'induction; l'autre électrode est fixée à la canule de la seringue. Les choses étant ainsi disposées, nous excitons le muscle par un courant à interruptions fréquentes (40 à 50 fois par seconde), de manière que ce muscle soit tétanisé sans secousses; à ce moment même, nous poussons l'injection, et les faisceaux musculaires sont fixés, à la fois tendus par la situation du membre et contractés par le courant électrique.

Préparés comme nous l'avons dit plus haut, ces faisceaux nous montrent les mêmes détails de la striation musculaire que nous avons observés sur le muscle tendu, avec cette différence que le disque épais a diminué de longueur. Il a en même temps diminué d'épaisseur, car la striation longitudinale y est plus nettement marquée que dans le faisceau simplement tendu. Si l'on a opéré sur le muscle rouge du lapin, sur le demi-tendineux, par exemple, ou sur les muscles de la tortue, la différence entre le muscle simplement tendu et le muscle tétanisé tendu est plus frappante. Le disque épais a diminué beaucoup plus de longueur, à tel point qu'il est difficile de le distinguer du disque mince. L'espace clair a gagné en longueur une partie de ce qu'a perdu le disque épais. Le disque mince, déjà plus long à l'état de repos dans le muscle rouge que dans le blanc, a acquis une plus grande longueur. Nous reviendrons dans un instant sur ce dernier fait, quand nous essayerons de nous rendre compte, par l'analyse histologique, du mode de contraction spécial au muscle rouge.

L'observation du muscle tétanisé tendu nous conduit à penser que, dans un faisceau musculaire, les disques épais sont les seules parties contractiles, tandis que les disques minces et les espaces clairs n'ont qu'une fonction purement mécanique. Rappelons d'abord qu'un faisceau musculaire revenu sur lui-même soit par contraction, soit par rétraction, ne laisse voir au microscope que les disques épais et les disques minces, et encore ceux-ci sont-ils peu distincts. C'est seulement lorsqu'un muscle est tendu (et les expériences que nous venons de faire nous le démontrent assez) que l'on y reconnaît d'une manière nette les espaces clairs qui bordent le disque mince, et cela quel que soit du reste son état de contraction. De là on peut conclure que la substance qui forme les espaces clairs se déplace dans la masse du faisceau avec une grande facilité et d'une manière tout à fait indépendante de la contraction elle-même, puisque tout retrait du muscle, actif ou passif, en amène la disparition. C'est ce que n'ont pas assez considéré les auteurs qui, dans ces dernières années, ont écrit sur la contraction musculaire, parce que leurs études ont porté principalement sur les muscles des pattes des insectes, et qu'ils ont négligé les muscles des vertébrés.

Les espaces clairs correspondent donc à une substance élastique qui tend constamment à rapprocher avec une certaine force les disques épais des disques minces, que le muscle soit à l'état de repos ou à l'état de contraction. Les disques minces sont moins élastiques que les espaces clairs, mais cependant leur élasticité est démontrée, puisqu'ils sont allongés dans un muscle contracté et tendu.

Ces premiers faits étant établis, pour avoir tous les éléments nécessaires à l'explication du raccourcissement du muscle lorsqu'il est revenu sur lui-même par contraction, il faut encore que nous reconnaissions que l'union des éléments musculaires est plus solide dans le sens longitudinal que dans le transversal.

En effet, il est impossible d'obtenir la décompositon en disques d'un faisceau musculaire à l'état vivant, tandis qu'il est assez facile d'isoler des

fibrilles de certains faisceaux musculaires ceux des ailes de l'hydrophile, par exemple.

L'union des différentes fibrilles qui constituent un faisceau semble, en effet, ne se faire qu'au niveau du disque mince, comme Amici l'a indiqué[1]. Entre les disques épais, au contraire, il existe des espaces qui peuvent être remplis plus ou moins par le plasma musculaire.

Revenons maintenant à la contraction des disques épais et cherchons à voir comment leur retrait peut déterminer le raccourcissement du faisceau d'une part, son augmentation d'épaisseur de l'autre. Lorsque la contractilité de ces disques est mise en jeu, ils tendent à prendre la forme sphérique, de même que des globules blancs amiboïdes, lorsqu'on les soumet à l'excitation électrique, et, comme ils sont en forme de bâtonnets allongés dans le sens du faisceau, leur état de contraction doit déjà produire un certain raccourcissement du muscle. Ce raccourcissement sera plus considérable encore si, comme les faits que nous avons observés nous autorisent à le croire, les disques épais, au moment de la contraction, perdent de leur masse en abandonnant une partie du plasma qui les imbibe. Ce plasma, se répandant sur les côtés des disques épais, concourt, pour une part, à l'accroissement du diamètre transversal des faisceaux et au durcissement du muscle en état de contraction.

Le phénomène essentiel de la contraction musculaire est donc le changement de forme et de volume du disque épais. Cet élément manifeste une activité du même ordre que celle de tous les autres éléments contractiles de l'organisme. L'amibe, la cellule lymphatique, la cellule musculaire lisse se contractent de la même façon que le disque épais, en prenant la forme qui leur permet d'avoir la plus petite surface.

Ce qu'il y a de spécial dans le muscle strié, c'est la petitesse des différents éléments contractiles, par rapport au faisceau musculaire qu'il s'agit de raccourcir. Nous croyons que ce petit volume des éléments contractiles est en rapport avec la rapidité du mouvement. Supposons, en effet, qu'un faisceau primitif soit formé d'une masse homogène; au moment de la contraction, la sortie du liquide qui permettra le raccourcissement sera nécessairement lente. Dans le faisceau strié, au contraire, la surface par laquelle peuvent se faire les échanges est beaucoup plus grande, puisqu'elle correspond à la somme des surfaces des disques épais qui la composent. La rapidité des échanges sera donc beaucoup augmentée, et par suite la rapidité de la contraction.

On doit chercher dans la striation transversale non pas le secret de la contraction elle-même, mais seulement celui du mode de la contraction. C'est en vue de la rapidité du mouvement que la substance contractile, au lieu d'être en une seule masse, comme dans la cellule lymphatique, est divisée en un grand nombre de petites parties qui en augmentent la surface d'échange.

1. Amici (*loc. cit.*) a même cru que tous les disques minces d'une même rangée sont unis latéralement les uns aux autres pour constituer des lames continues dans toute l'étendue du faisceau musculaire.

C'est aussi avec la rapidité de la contraction que doit être en rapport cette séparation du disque épais en plusieurs disques accessoires que nous avons fait remarquer plus haut (p. 578).

Dans les muscles lisses au contraire, dont nous allons parler bientôt, la fibrille musculaire est continue. Dès lors, la surface de l'élément contractile étant moins grande par rapport à sa masse, les échanges, au moment de la contraction, y seront plus difficiles. Celle-ci devra s'y produire d'une manière plus lente; c'est ce qui a lieu en effet.

Il nous reste à dire quelques mots du mode de contraction particulier aux muscles rouges et à chercher si nous pouvons expliquer par leur constitution histologique pourquoi ils se contractent peu à peu, arrivent à un maximum de raccourcissement considérable et se décontractent aussi avec lenteur.

Nous avons vu que, dans un muscle rouge tétanisé, tendu, les disques épais ont subi un plus grand retrait, tandis que les espaces clairs et les disques minces se sont relativement beaucoup plus allongés que dans le muscle blanc. Nous pouvons donc en conclure que ces dernières parties sont beaucoup plus extensibles et plus élastiques dans les muscles rouges que dans les muscles blancs. Lorsque la contraction se produira dans un muscle rouge, c'est-à-dire lorsque les disques épais changeront de forme et diminueront de volume pour produire le raccourcissement, leur action s'exercera d'abord sur ces intermédiaires, et, comme ils sont très élastiques, ils céderont à la traction exercée et s'allongeront. Le raccourcissement du muscle sera diminué d'autant à son début. Mais ensuite, leur élasticité étant mise en jeu, ces parties restitueront la force qu'elles avaient absorbée, et, se raccourcissant à leur tour, continueront à diminuer la longueur du muscle. C'est pour cela qu'un muscle rouge, excité par une série de secousses d'un courant d'induction (10 à 20 par seconde, par exemple), se contracte progressivement et sans interruption jusqu'à son maximum de raccourcissement, les parties élastiques servant d'intermédaires pour emmagasiner en quelque sorte la force de contraction, tandis que dans les muscles blancs, où ces parties sont moins élastiques, chaque secousse produit une contraction brusque suivie d'une décontraction.

Rapports des parties constituantes d'un faisceau musculaire. — Après avoir fait l'analyse des éléments qui composent un faisceau musculaire, il importe de voir comment ils sont groupés dans les différentes espèces de faisceaux; ce qui nous conduit à étudier ces espèces et à en chercher les rapports morphologiques.

Dans ce but, il est bon d'examiner d'abord des coupes transversales de faisceaux primitifs. Ces coupes peuvent être faites sur des muscles desséchés. A cet effet, un fragment de muscle dont tous les faisceaux sont parallèles est fixé sur une lame de liège avec des épingles; lorsqu'il est sec, on l'insère dans une rainure pratiquée dans un bouchon de liège, pour en faire des coupes. Celles-ci sont d'abord placées dans l'eau, et, lorsqu'elles ont subi un gonflement qui leur donne à peu près les dimensions qu'elles auraient si elles

avaient été faites sur le muscle frais, on les colore avec le picrocarminate et on les monte dans la glycérine additionnée d'acide formique.

Dans un faisceau d'un muscle blanc du lapin, coupé en travers, les noyaux se montrent au-dessous du sarcolemme, sous la forme de petits corps rouges, ovalaires et légèrement aplatis.

Les noyaux des muscles rouges du même animal paraissent plus globuleux et sont logés sous le sarcolemme dans des dépressions de la substance musculaire. On en observe dans l'épaisseur même de cette substance.

Chez la grenouille, le nombre des noyaux situés dans la substance musculaire est encore plus considérable.

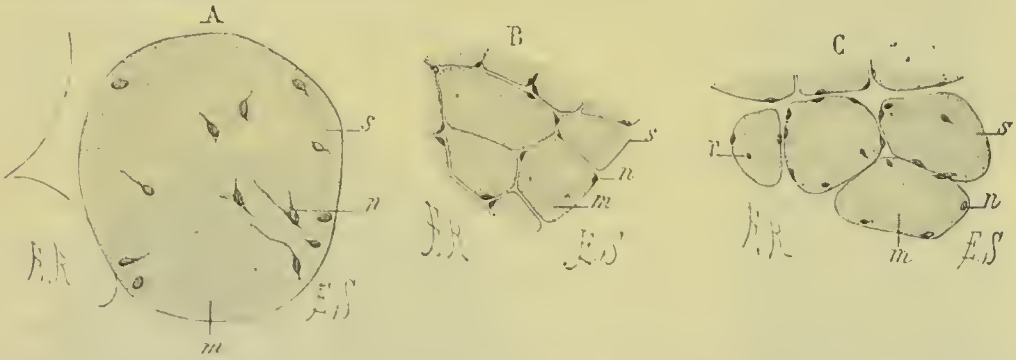


Fig. 184. — Coupes transversales des faisceaux musculaires faites après dessiccation : coloration au picrocarminate ; conservation dans la glycérine additionnée d'acide formique. — A, faisceau du couturier de la grenouille ; B, faisceau du grand adducteur du lapin ; C, faisceau s du demi-tendineux du même animal. — *m*, substance musculaire ; *n*, noyaux ; *s*, sarcolemme. — 100 diam

La présence de noyaux dans l'intérieur de la substance musculaire a une signification que l'on ne peut saisir que si l'on a acquis la notion des cylindres primitifs. Depuis longtemps déjà, Leydig[1] a montré que chez un grand nombre d'animaux les faisceaux primitifs sont eux-mêmes constitués par des faisceaux plus petits, auxquels il a donné le nom de cylindres primitifs.

Pour mettre en évidence les cylindres primitifs des muscles de la grenouille, voici une bonne méthode :

Le couturier de l'animal ayant été détaché et fixé en extension sur une tige de bois au moyen de ligatures appliquées à ses extrémités, on le plonge ainsi tendu dans une solution d'acide osmique à 1 pour 500. Au bout de quelques minutes, les faisceaux superficiels du muscle qui ont pris une teinte brune sont dissociés dans l'eau, colorés par le picrocarminate, lavés, puis placés sur une lame de verre dans une goutte d'acide acétique et recouverts d'une lamelle. En appuyant sur celle-ci à plusieurs reprises avec une aiguille, on obtient une dissociation suffisante des faisceaux primitifs.

En examinant ces préparations avec un objectif fort (400 à 500 diamètres), les faisceaux primitifs paraissent encore nettement striés en travers. On y aperçoit une série de fentes longitudinales qui, sur un certain nombre de faisceaux, sont occupées par des granulations graisseuses et par des noyaux. Ces noyaux (fig. 185) présentent une disposition semblable à celle des noyaux

1. *Leydig*. Traité d'histologie de l'homme et des animaux, trad. française, 1856, p 160.

des tendons. Du reste, la raison de leur forme est la même : placés entre les cylindres primitifs, ils en prennent l'empreinte.

Quant aux cylindres primitifs, en certains points ils sont séparés les uns des autres dans une longueur plus ou moins grande et peuvent alors être observés isolés ; mais le plus souvent ils sont groupés, et leur séparation est simplement marquée par les fentes dont il a été question. Tantôt ces fentes sont parallèles entre elles, tantôt deux fentes voisines vont en se rapprochant, de telle sorte que le cylindre qu'elles limitent semble se terminer en pointe. Si cette observation est exacte, c'est-à-dire si cette apparence n'est pas due à un déplacement des cylin-

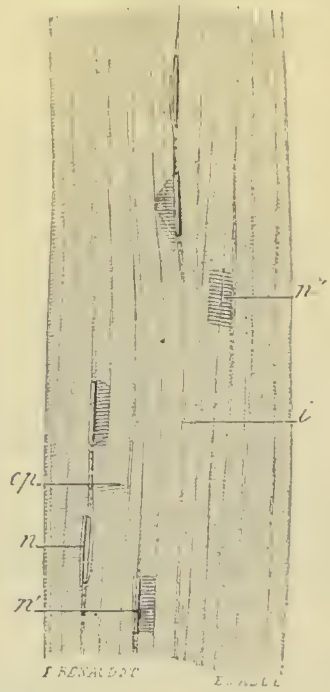


Fig. 185. — Fragment d'un faisceau superficiel du couturier de la grenouille soumis à l'action successive de l'acide osmique, du picrocarminate et de l'acide acétique. — *cp*, cylindre primitif ; *i*, interstice ; *n*, noyau vu de profil ; *n'*, noyau vu de trois quarts ; *n''*, noyau vu de face. — 400 diam.

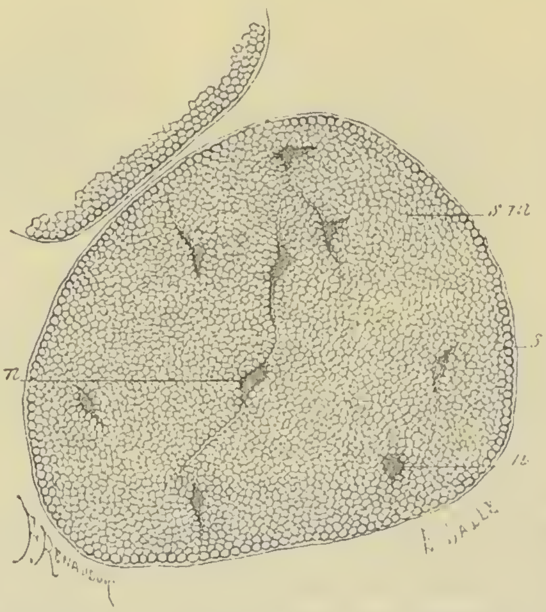


Fig. 186. — Coupe transversale d'un faisceau du couturier de la grenouille, faite après l'action successive de l'acide osmique, de la gomme et de l'alcool. Préparation conservée dans la glycérine. — *s*, sarcolemme ; *n*, noyaux ; *sm*, substance musculaire. — 125 diam.

dres par la pression, ceux-ci auraient donc la forme d'un fuseau très allongé. Ces fuseaux en s'engrenant les uns dans les autres arriveraient à composer la masse cylindrique qui constitue le faisceau primitif, comme nous verrons les cellules musculaires lisses qui sont également fusiformes constituer, par leur réunion, des groupes cylindriques ou membraneux.

L'existence des cylindres primitifs dans les faisceaux musculaires rend parfaitement compte des figures que Cohnheim a observées dans les coupes transversales de ces faisceaux, faites après congélation et examinées dans le chlorure de sodium à 1 pour 200. Du reste, ce dernier réactif n'est pas le seul qui convienne. Avec une solution d'alun à 1 pour 200 et avec l'alcool au tiers on obtient des résultats absolument semblables. Les préparations faites à l'aide de cette méthode ne peuvent pas être conservées. Il est possible cependant d'en obtenir de persistantes par le procédé suivant : la cuisse d'une grenouille étant dénudée, on pratique dans le couturier resté en place

(nous choisissons ce muscle parce que ses faisceaux sont bien parallèles) une injection interstitielle d'acide osmique à 1 pour 100. Le muscle est ensuite détaché et plongé dans l'alcool ; puis il est porté dans l'eau. Enfin, il est mis pendant vingt-quatre heures dans une solution de gomme et plongé une seconde fois dans l'alcool. On y fait ensuite des coupes transversales minces qui sont montées dans la glycérine après qu'on en a enlevé la gomme par un séjour convenable dans l'eau.

Quelle que soit la méthode que l'on ait suivie, les faisceaux apparaissent dans ces coupes comme autant de cercles réguliers ou légèrement déformés par pression réciproque. En mettant l'objectif bien au point sur leur surface de section, on les voit décomposés en une série de polygones (*sm*, fig. 186), groupés les uns à côté des autres comme des pavés et séparés par une substance cimentante, de réfringence moindre. De distance en distance, se montrent dans le ciment des corpuscules réfringents qui correspondent aux noyaux. Les polygones, connus sous le nom de champs de Cohnheim, ne sont autre chose que la coupe transversale des cylindres primitifs.

La notion du cylindre primitif nous permet de mieux comprendre la signification morphologique des fibrilles des ailes de l'hydrophile. Ces fibrilles, qui sont plus larges que les fibrilles des muscles des pattes, n'ont pas toutes le même diamètre, et parfois elles se divisent. Ce ne sont donc pas des fibrilles élémentaires, mais des cylindres primitifs.

Rapports des faisceaux primitifs entre eux. — On étudie les rapports des faisceaux musculaires au moyen de coupes transversales. Ces coupes peuvent être faites sur des muscles desséchés ou sur des muscles durcis par les réactifs.

La disposition la plus simple est celle que l'on constate dans le muscle couturier de la grenouille. Tous les faisceaux y sont rangés les uns à côté des autres en un seul groupe. A la périphérie du muscle se montre une couche de tissu conjonctif sous forme d'enveloppe continue, plus épaisse au niveau de sa face superficielle où elle correspond à l'aponévrose générale. Entre les différents faisceaux musculaires se voit la coupe de vaisseaux capillaires et de petits faisceaux de tissu conjonctif entre lesquels il existe des cellules connectives. Le long des gros vaisseaux, le tissu conjonctif est plus abondant, et la direction de ses fibres est subordonnée à celle des vaisseaux.

Chez les mammifères et en particulier chez l'homme, pour former un muscle, les faisceaux primitifs se réunissent en groupes distincts que l'on appelle des faisceaux secondaires.

Les faisceaux secondaires forment en se groupant des faisceaux tertiaires. Le muscle tout entier est ainsi partagé en une série de départements séparés par des cloisons de tissu conjonctif. Chacun de ces départements est divisé à son tour en départements plus petits, et ces derniers sont eux-mêmes composés de faisceaux primitifs. Pour cette étude nous recommandons les muscles d'embryons humains, où, les faisceaux étant très petits, il est possible, en se servant d'un grossissement de 20 à 25 diamètres, d'observer en même temps la coupe d'un muscle tout entier ou d'une portion considérable de celui-ci.

Le tissu conjonctif des muscles est remarquable par la minceur de ses faisceaux. On y observe souvent des cellules adipeuses, et ses mailles contiennent des cellules lymphatiques en nombre plus ou moins grand. Il constitue une vaste cavité lymphatique cloisonnée, dans laquelle sont plongés les faisceaux musculaires, de sorte que c'est dans la lymphe qui les baigne qu'ils prennent les éléments de leur nutrition et qu'ils déversent leurs produits de désassimilation.

A propos des rapports que les faisceaux musculaires affectent les uns avec les autres, il se présente une question : un faisceau primitif s'étend-il toujours d'un tendon d'insertion jusqu'à l'autre? Pour la résoudre, il importe de suivre des méthodes qui permettent d'isoler des faisceaux dans toute leur longueur. La difficulté de la dissociation tient à ce que ces faisceaux, ayant une consistance faible, se déchirent lorsque l'on cherche à les isoler, ou à ce que le tissu conjonctif qui les unit présente une trop grande résistance. De là deux méthodes : l'une qui consiste à augmenter la consistance des faisceaux, l'autre par laquelle on se propose de diminuer la résistance du tissu conjonctif.

On ne peut songer à la dissociation par la première de ces méthodes que si le tissu conjonctif du muscle n'a pas une trop grande résistance, comme par exemple chez la grenouille et le lapin; mais chez le chien et chez l'homme, il ne faudrait pas compter sur la réussite de l'opération. Les procédés qui sont surtout à recommander sont l'injection interstitielle d'acide osmique et la macération dans l'alcool. Sous leur influence, la myosine, qui entre dans la constitution des faisceaux primitifs, se coagule, leur donne de la consistance, et il est alors possible, en se servant de la pince et des aiguilles, de détacher un à un ou par très petits groupes les faisceaux primitifs.

Pour ramollir ou dissoudre le tissu conjonctif intermusculaire, Rollett a conseillé de mettre un fragment de muscle à sec dans un tube de verre dont les deux extrémités sont fermées à la lampe et de chauffer le tout dans un bain de sable à 120 ou 140 degrés. A cette température, le tissu conjonctif se transforme en gélatine, tandis que la myosine se coagule et reste coagulée. Portant alors le tube dans l'eau chaude, on le brise et il suffit d'agiter le fragment de muscle pour le voir se dissocier en faisceaux.

Kühne a employé le procédé suivant : un fragment de muscle est placé dans un petit baquet et saupoudré de chlorate de potasse en cristaux; on y verse alors avec ménagement, pour ne pas déranger le chlorate, de l'acide azotique ordinaire. Bientôt le tissu conjonctif est dissous, et le muscle porté dans l'eau se laisse décomposer en faisceaux.

On trouvera dans l'article suivant l'exposé des deux méthodes, beaucoup plus simples pour obtenir la dissociation des faisceaux primitifs.

Quelle que soit la méthode employée, on pourra trouver, comme Rollett l'a indiqué le premier, quelques faisceaux musculaires qui s'amincissent et se terminent sans avoir atteint le tendon d'insertion. Cette terminaison se fait quelquefois par une extrémité régulière fusiforme, et d'autres fois,

comme dans le muscle adducteur du lapin et dans la langue de la grenouille, par une série de dents plus ou moins allongées et ramifiées à leur tour.

Rapports des muscles et des tendons. — L'union des muscles et des tendons est si intime, qu'il est impossible, en employant des moyens mécaniques simples, de les séparer. C'est pour cela que les anciens histologistes supposaient que la fibre musculaire et la fibre tendineuse étaient continues. On pourrait croire à cette continuité, lorsque les faisceaux primitifs s'attachent à un tendon dont l'axe se confond avec le leur; mais c'est là une illusion. Déjà Kölliker[1] avait remarqué que, dans le cas où les faisceaux primitifs rencontrent obliquement leur tendon d'insertion, il se terminent par des extrémités libres, de telle sorte que la discontinuité est évidente. C'est ce qui avait conduit cet auteur à soutenir une opinion extraordinaire sur l'union des muscles et des tendons. Il pensait que cette union peut se faire de deux façons différentes, suivant que l'axe des faisceaux musculaires se confond avec celui du tendon, ou que ces faisceaux rencontrent obliquement leur tendon d'insertion.

Weismann[2], en plaçant de petits muscles tout entiers ou des fragments de muscles dans une solution de potasse à 35 pour 100, remarqua qu'après un séjour d'une demi-heure à peu près dans ce réactif les faisceaux musculaires se séparent les uns des autres et en même temps se détachent de leurs insertions tendineuses. Examinant alors au microscope l'extrémité des faisceaux musculaires, il reconnut qu'elle était limitée par une ligne régulière, sans trace de rupture. Il en conclut que les faisceaux musculaires sont unis au tendon par une substance cimentante qui est dissoute par la potasse. Cette substance cimentante se trouverait placée entre le tendon et le sarcolemme, et cette membrane recouvrirait le faisceau aussi bien à son extrémité adhérente que sur sa surface libre.

Pour bien juger de l'action de la solution concentrée de potasse sur les muscles, voici comment il faut procéder : Chez une grenouille vivante, le gastrocnémien étant dénudé, on pratique sur la partie inférieure de son aponévrose d'insertion deux incisions parallèles dont on réunit les extrémités par deux incisions transversales. Le segment d'aponévrose ainsi isolé est détaché avec la portion du muscle qui y adhère et porté sur une lame de verre. Tandis qu'on en prévient la dessiccation avec l'haleine, on sépare au moyen des aiguilles les faisceaux musculaires en deux groupes, dont on rabat l'un d'un côté et l'autre de l'autre, en laissant dans le milieu une raie au fond de laquelle on aperçoit l'expansion tendineuse. On recouvre alors d'une lamelle et on ajoute une goutte d'une solution de potasse à 40 pour 100, qui pénètre par capillarité. Examinant alors à un grossissement de 250 à 300 diamètres, on reconnaît que chaque faisceau musculaire possède un petit tendon particulier qui embrasse son extrémité. Ce tendon, en s'amincissant progressivement, finit par devenir un simple filament qui va se confondre avec l'expansion tendineuse tout entière.

1. *Kölliker*, Éléments d'histologie humaine, 2e édit. française, p. 215.

2. *Weismann*, Ueber die Verbindung der Muskelfasern mit ihren Ansatzpunkten. *Zeitschrift für ration. Medicin*, 3e série, vol. XII, 1861, p. 126

A mesure que la potasse agit, on voit l'extrémité des faisceaux musculaires se dégager peu à peu de leurs tendons et s'en écarter. Entre la cupule du petit tendon et l'extrémité du faisceau musculaire primitif qui s'y moule exactement, on voit se produire un espace clair en forme de croissant qui s'agrandit peu à peu. Plus tard, le sarcolemme est ramolli, il se déchire, et l'extrémité du faisceau est alors complètement dégagée et libre. Jamais nous n'avons vu le sarcolemme détaché du tendon envelopper l'extrémité du faisceau musculaire, comme l'a indiqué Weismann ; du reste cet auteur dit lui-même qu'il n'a pu le voir qu'une fois ou deux dans un nombre considérable d'observations.

Il convient de dire à ce propos que Weismann n'a pas suivi le mode de préparation que nous venons de décrire. Il plaçait dans quelques centimètres cubes de la solution de potasse une petite portion du muscle avec le tendon correspondant, et, au bout d'une demi heure à trois quarts d'heure, il pratiquait la dissociation. Ce dernier procédé donne des faisceaux musculaires isolés et séparés de leurs insertions tendineuses, mais il ne permet pas de suivre ce qui s'y produit sous l'influence de la potasse. C'est là probablement la raison pour laquelle cet auteur a cru avoir dissous un ciment compris entre la surface tendineuse et le sarcolemme qui recouvrirait l'extrémité du muscle.

Nous allons indiquer maintenant une méthode bien préférable à la précédente, et qui de plus fournit des préparations persistantes.

Un litre d'eau est élevé à la température de 55 degrés centigrades ; on cesse de chauffer et on y plonge une grenouille vivante. Elle s'agite, meurt et est prise de rigidité. On la laisse dans l'eau chaude, dont la température s'abaisse peu à peu, pendant un quart d'heure. Au bout de ce temps, la peau est ramollie à tel point, qu'il suffit, pour l'enlever sur un des membres abdominaux, de le saisir dans un linge et d'exercer une légère traction.

Les muscles se détachent alors de leurs tendons avec la plus grande facilité, et leurs faisceaux primitifs se séparent en les agitant simplement dans l'eau, ou en les dissociant avec les aiguilles sur une lame de verre. On peut obtenir ainsi de très nombreux faisceaux primitifs isolés. C'est par l'observation de préparations de ce genre qu'il est le plus facile d'arriver à bien voir les cylindres primitifs des faisceaux musculaires de la grenouille. La striation longitudinale y est très marquée, sauf en certains points où, sous l'influence des convulsions produites par la chaleur, il s'est produit des ondes de contraction de formes très irrégulières et présentant un éclat et une homogénéité qui rappellent la transformation vitreuse (transformation cireuse de Zenker). Par contre, la striation transversale y est irrégulière, et les stries des cylindres primitifs ne se correspondent pas exactement.

La plupart des faisceaux primitifs dissociés par ce procédé possèdent leurs deux extrémités naturelles. Ces extrémités sont nettement limitées; leur forme est variable, mais en général elle figure un cône à sommet arrondi et dont la surface serait recouverte d'un nombre plus ou moins considérable de dentelures de dimensions différentes. Chacune de ces den-

telures appartient à un seul cylindre primitif, ou bien plusieurs de ces cylindres sont groupés pour former une dent plus volumineuse.

Pour observer le mode d'union des faisceaux primitifs et des tendons, il faut faire avec grand soin la dissociation des muscles chauffés. Prenons par exemple le gastrocnémien de la grenouille, coupons avec des ciseaux le tendon d'Achille et le tendon antérieur du muscle; puis, le gastrocnémien étant placé dans l'eau, faisons avec les ciseaux, sur le tendon d'Achille et sur son expansion, une série de sections longitudinales qui comprendront le muscle dans toute son épaisseur. Nous aurons ainsi des fragments possédant chacun une portion de tissu tendineux et les faisceaux musculaires correspondants.

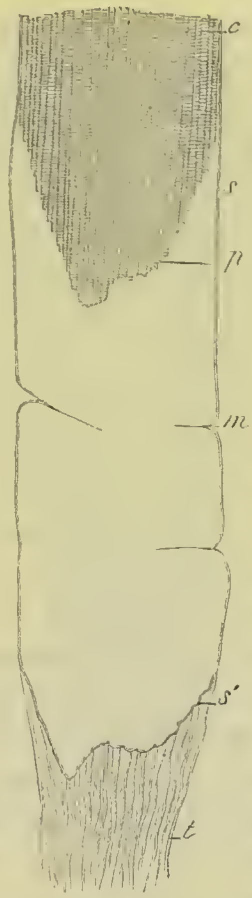


Fig. 187. — Faisceau musculaire du gastrocnémien de la grenouille, isolé avec son petit tendon, après l'action de la chaleur. Examen fait dans le sérum fortement iodé. — *c*, cylindres primitifs; *p*, terminaison conique du faisceau musculaire; *s*, sarcolemme; *s'*, sarcolemme recouvrant la cupule tendineuse; *m*, pli du sarcolemme; *t*, tendon. — 140 diam.

Portant alors un de ces petits fragments sur une lame de verre et agissant avec des aiguilles, séparons un à un les faisceaux musculaires et, en les tirant légèrement nous verrons qu'ils sont encore reliés au tendon par une attache peu résistante, qu'il ne faut pas rompre.

Lorsque la dissociation est complète, ce dont on juge en faisant l'examen au microscope à un faible grossissement, on ajoute une goutte de sérum fortement iodé. Ce réactif produit une coloration brune de la portion des faisceaux musculaires qui avoisine le tendon, ainsi qu'on peut déjà l'apprécier à l'œil nu. A un grossissement de 150 à 200 diamètres, l'observateur constate que cette partie brune correspond à la gaîne sarcolemmique de laquelle les faisceaux se sont retirés en laissant une substance qui se colore par l'iode à la façon de la matière glycogène.

Il faut remarquer que cette substance ne se montre pas seulement à l'extrémité de la gaîne sarcolemmique, mais encore en différents points de la surface des faisceaux primitifs où le sarcolemme est soulevé.

Chaque extrémité des faisceaux primitifs est reçue dans une cupule tendineuse dans laquelle elle se moule exactement. Les fibres tendineuses se terminent d'une façon brusque à la surface de cette cupule, sur laquelle les fibres centrales arrivent perpendiculairement, tandis que les périphériques lui sont plus ou moins obliques.

L'union de la cupule tendineuse et du sarcolemme est si intime, qu'il est impossible de les séparer. La potasse à 40 pour 100 ne semble pas produire cette séparation, quoiqu'en ait dit Weismann.

Si l'on compare les préparations obtenues par ce dernier réactif à celles

que donne la chaleur, on arrive à se convaincre que la séparation des faisceaux musculaires s'effectue dans les deux cas par la rétraction des faisceaux primitifs. Cependant, cette rétraction ne suffit pas pour la produire, car un courant d'induction interrompu, dont on prolonge l'action même pendant longtemps, ne détermine pas la désunion ; il faut donc qu'il se soit fait en même temps, dans les préparations dont nous parlons, une modification chimique grâce à laquelle le faisceau musculaire, moins solidement uni au tendon, a pu obéir à la rétraction. Le mode d'union des fibres musculaires et des tendons n'est pas aussi simple que l'a dit Weismann et que l'ont répété à sa suite la plupart des histologistes. Il ne suffit pas, en effet, d'admettre l'existence d'un ciment, il faut en supposer deux et de nature différente : l'un qui relierait la fibre musculaire au sarcolemme et qui se dissoudrait à une température de 55°, l'autre qui réunirait le sarcolemme à la cupule du tendon et qui serait conservé à cette température.

Pour se rendre compte de la disposition des noyaux du muscle et du tendon à leur point de juxtaposition, il faut, après avoir fait une préparation du muscle chauffé, la colorer au picrocarminate. On voit alors un certain nombre de noyaux colorés en rouge qui se trouvent libres dans la cavité du sarcolemme abandonnée par le faisceau rétracté. Les noyaux intramusculaires aplatis, situés entre les cylindres primitifs, forment des séries linéaires longitudinales qui se continuent jusqu'à l'extrémité du faisceau. Le tendon présente, immédiatement au-dessous de la cupule, des noyaux allongés suivant son axe et formant en ce point une bordure régulière.

Nous venons d'étudier l'union des muscles et des tendons, en soumettant les tissus à des réactions qui modifient les rapports des parties. Cette étude peut se faire, chez certains animaux, sans que ces rapports soient changés. Chez l'hippocampe (cheval marin), petit animal que l'on se procure facilement sur nos côtes, la nageoire dorsale[1] est mise en mouvement par des muscles contenus dans une boîte osseuse divisée en deux parties latérales par une cloison longitudinale que forment les arêtes de la nageoire. Lorsque, chez un hippocampe vivant, on fait sauter avec des ciseaux une des parois latérales de cette boîte osseuse, on aperçoit ces muscles, qui sont à peu près tous d'égale dimension et rangés les uns à côté des autres. La boîte osseuse détachée de l'animal est alors placée tout entière dans une solution d'acide osmique à 1 pour 500. Après un séjour de quelques heures dans cette solution, les muscles peuvent être détachés avec des ciseaux et placés dans l'eau sans qu'il se produise de rétraction, et avec des aiguilles on arrive facilement à en isoler des faisceaux primitifs qui possèdent chacun un tendon distinct. Les cylindres primitifs y sont volumineux et forment à leur surface un relief très marqué. Le sarcolemme en est séparé par une masse de protoplasma parsemé de gros noyaux. Au niveau de l'union du muscle et du tendon, la masse protoplasmique disparaît, et le sarcolemme vient, en se recourbant, se fixer sur la ligne de séparation et se confondre avec elle. Cette ligne est marquée par un double contour.

1 *Note sur la nageoire dorsale de l'hippocampe.* Arch. de physiologie, 1874, p. 16.

Si le sarcolemme se poursuit entre la terminaison musculaire et la cupule tendineuse, comme semblent l'établir les faits exposés antérieurement, il faut admettre que la substance protoplasmique qui le sépare de la masse musculaire n'existe pas à ce niveau. Mais il est impossible, dans l'état actuel de la science, de dire si elle s'est transformée en une sorte de ciment ou si l'adhésion du sarcolemme en ce point est simplement moléculaire. C'est là une question encore fort obscure, et de nouvelles recherches sont nécessaires pour l'élucider.

Fidèle au programme que nous nous sommes tracé, nous croyons devoir indiquer les problèmes à mesure qu'il se présentent. Plus loin, à propos du développement des faisceaux musculaires, on verra que, le faisceau primitif étant à l'origine une cellule dont le sarcolemme est la membrane, celui-ci doit exister sur toute la surface du faisceau, aussi bien à son extrémité que sur ses côtés.

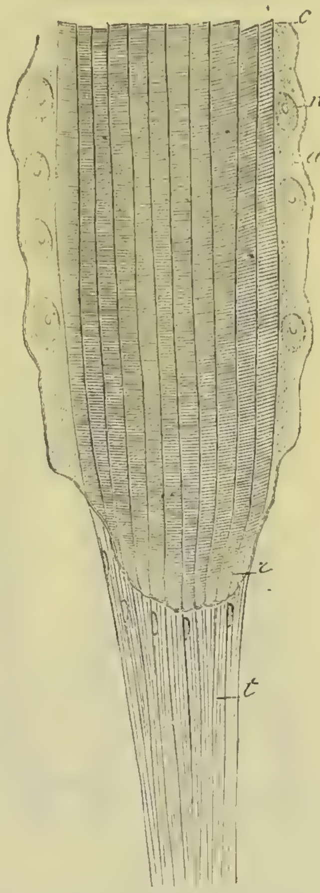


Fig. 188.— Fibre musculaire de la nageoire dorsale de l'hippocampe, fixée par l'acide osmique et conservée dans la glycérine. — *t*, tendon; *r*, terminaison du faisceau musculaire; *n*, noyau; *a*, masse protoplasmique; *c*, cylindre primitif. — 450 diam.

Vaisseaux des muscles. — Pour être étudiés convenablement, les vaisseaux des muscles doivent être injectés avec une masse à la gélatine, colorée par le bleu de Prusse ou le carmin. Si l'injection a été faite avec une masse colorée par le bleu de Prusse soluble, il suffira, pour obtenir des préparations convenables, de mettre le muscle tout entier, après que par le refroidissement la gélatine aura pris de la consistance, dans le liquide de Müller ou dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. Lorsqu'il y aura séjourné 24 ou 48 heures, en se servant de ciseaux, de la pince et des aiguilles, on pourra enlever des faisceaux secondaires qui, colorés au picrocarminate et montés dans la glycérine ou dans le baume du Canada, fourniront de bonnes préparations pour la vue longitudinale du réseau capillaire. On y observera que ce réseau a des mailles rectangulaires allongées dans le sens de l'axe des faisceaux, et que chacune de ces mailles correspond à un faisceau primitif. On obtient des préparations analogues et tout aussi démonstratives en prenant des muscles plats et très petits, tout entiers, comme les muscles de l'œil du lapin, du rat et de la souris, les muscles abdominaux et les muscles du cou de la grenouille, que l'on traite de la même façon.

Les vaisseaux des muscles peuvent être étudiés aussi à l'aide de coupes pratiquées sur les pièces injectées. Si l'injection a été faite avec du carmin, le durcissement sera obtenu au moyen de l'alcool seul. Si elle a été faite avec du bleu de Prusse, on pourra colorer le muscle soit avec le carmin, soit

avec la purpurine. Les coupes longitudinales, qui doivent être un peu épaisses, montrent le réseau vasculaire tel qu'il a été décrit. Dans les coupes transversales la plupart des vaisseaux capillaires sont coupés transversalement et apparaissent comme de petits cercles colorés, situés entre les faisceaux primitifs.

Dans la langue, où il y a des faisceaux musculaires qui s'entre-croisent perpendiculairement, on a, dans une même coupe, la vue longitudinale et la vue transversale du réseau.

Dans les muscles rouges du lapin, les vaisseaux sanguins ont une forme et une distribution particulières : les mailles formées par les réseaux capillaires sont en beaucoup de points presque aussi larges que longues ; les branches longitudinales de ce réseau sont sinueuses, tandis que les branches transversales montrent des dilatations fusiformes. Les veinules qui partent du réseau possèdent des dilatations encore plus considérables.

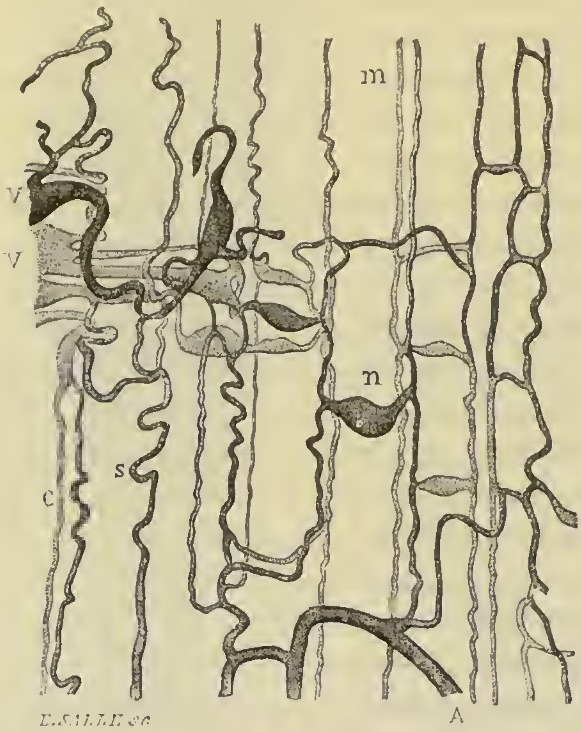


Fig. 189. — Réseau vasculaire du muscle demi-tendineux du lapin, injecté avec le bleu de Prusse solide et la gélatine. — A, artère ; V, veines ; *n*, dilatation des branches transversales des capillaires ; *m*, place des faisceaux musculaires qui n'ont pas été dessinés ; *s*, branche longitudinale sinueuse. — 100 d.

Cette disposition des vaisseaux sanguins dans les muscles rouges est en rapport avec leur mode de contraction. Pendant qu'un muscle est contracté, il ne laisse pas passer de sang dans son intérieur, mais, au moment où la contraction s'arrête, la veine du muscle donne lieu à un écoulement abondant de sang noir. Par contre, si le muscle est bien reposé, le sang qui s'en échappe est rouge (Cl. Bernard)[1]. Le sang est donc arrêté dans le muscle pendant sa contraction ; il s'y transforme en sang noir, c'est-à-dire qu'il abandonne son oxygène, car la contraction ne peut se produire s'il ne se fait dans le muscle une réaction chimique dont l'oxygène est un des éléments essentiels.

Si donc un muscle ne laisse pas passer de sang pendant qu'il se contracte et s'il lui faut cependant de l'oxygène pour se contracter, c'est qu'il a fait provision de ce dernier corps ; cette provision doit être plus grande lorsque la contraction est plus lente et plus soutenue. C'est la raison pour laquelle les muscles rouges, qui se contractent lentement et avec persistance, présentent des capillaires nombreux, volumineux et munis de dilatations qui forment autant de réservoirs pour le sang.

1. *Cl. Bernard*. Liquides de l'organisme, 1859, t. I, p. 325.

Les nerfs des muscles et leur terminaison dans les faisceaux primitifs seront étudiés dans un chapitre spécial à propos du système nerveux.

Développement des faisceaux musculaires striés. — Les muscles se développent aux dépens du feuillet moyen du blastoderme. Chaque faisceau musculaire semble se former d'une seule cellule primitive, mais les modifications qui se produisent dans cette cellule pour donner naissance à un faisceau ne sont pas identiques chez les mammifères et chez les batraciens.

Chez les embryons humains, on distingue les muscles seulement après le second mois. Ils apparaissent alors à l'œil nu comme une substance gélatineuse transparente et vaguement fibrillaire. Pour en faire l'étude histologique, le sérum faiblement ou fortement iodé, les solutions d'acide chromique à 1 ou 2 pour 10 000, de bichromate de potasse et d'ammoniaque à 1 ou 2 pour 1000, l'alcool au tiers, constituent les meilleurs réactifs, parce qu'ils donnent aux éléments musculaires, qui sont alors très mous et très délicats, une consistance qui permet de les séparer sans en altérer la forme. Le sérum iodé convient d'une manière particulière. Il peut être employé de deux façons : de petits fragments d'embryon contenant des muscles sont placés dans quelques centimètres cubes du réactif, et, après qu'ils y ont séjourné vingt-quatre ou quarante-huit heures, on en pratique la dissociation avec des aiguilles sur la lame de verre. On peut aussi exécuter directement, dans le sérum fortement ou faiblement iodé, la dissociation d'une petite masse musculaire enlevée avec des ciseaux. Mais la première méthode est préférable lorsqu'on se propose simplement d'isoler des fibres musculaires.

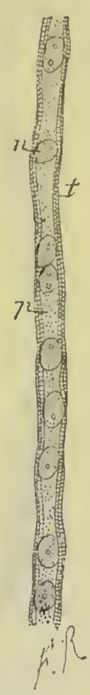


Fig. 190. — Faisceau primitif d'un embryon humain de trois mois et demi à peu près, examiné dans le sérum iodé. — *n*, noyau; *t*, écorce musculaire striée; *p*, protoplasma central. — 300 diam.

Ces fibres apparaissent sous la forme de corps allongés possédant à leur centre des noyaux ovalaires disposés en série, et au niveau de chacun desquels il existe un léger renflement. L'existence de ces renflements, contenant un noyau et séparés les uns des autres par des parties rétrécies, avait fait supposer à Schwann[1] qu'une fibre musculaire est formée d'une série de cellules placées bout à bout et soudées les unes aux autres. Depuis, Kölliker[2], en étudiant le développement des muscles chez des embryons très jeunes, a pu reconnaître qu'un faisceau primitif est constitué à l'origine par une seule cellule fusiforme, contenant un noyau à son centre. Cette cellule s'allonge en même temps que son noyau se multiplie, et elle devient ainsi une longue fibre possédant un grand nombre de noyaux.

1 *Schwann*, Microscopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Structur und dem Wachsthum der Thiere und Pflanzen. Berlin, 1839.

2. *Kölliker*, Éléments d'histologie humaine, trad. franç., 2e édit., p. 231.

Chez un embryon humain de trois à quatre mois, les faisceaux primitifs, devenus cylindriques, possèdent une striation transversale très nette. Ils sont formés d'une masse centrale granuleuse, entourée d'une écorce de substance musculaire proprement dite, où la striation se montre aussi nettement que dans les fibres musculaires d'adulte (fig. 190). La substance striée, disposée à la périphérie, constitue ainsi un tube dans l'intérieur duquel se trouve la substance granuleuse centrale. Celle-ci contient des noyaux ovalaires dont le grand axe se confond avec celui de la fibre et qui sont munis d'un ou de deux nucléoles brillants et volumineux. Il arrive souvent que ces noyaux sont disposés par paires et qu'ils présentent des signes de division.



Fig. 191. — Faisceau musculaire de la queue d'un têtard de grenouille rousse, sept jours après la fécondation. Dissociation dans l'alcool au tiers, coloration au picrocarminate. — *n*, noyau; *s*, substance striée; *gv*, granulations vitellines. — 205 diam.

Sous l'influence du sérum fortement iodé, la substance granuleuse centrale prend une coloration brun acajou. Cette réaction indique qu'elle contient de la matière glycogène, comme Cl. Bernard l'a montré il y a déjà longtemps.

En poursuivant l'examen d'un faisceau musculaire d'embryon, traité par le sérum fortement iodé, on voit que la matière qui a été colorée par ce réactif traverse bientôt la couche striée périphérique et se répand par diffusion dans le liquide de la préparation, de telle sorte que la coloration de la matière centrale finit par disparaître complètement. Du reste, tout élément anatomique contenant de la matière glycogène, et traité par le sérum iodé, présente des phénomènes de diffusion tout à fait semblables.

Parmi les faisceaux musculaires dissociés soit avec le sérum iodé, soit après l'action des solutions chromiques, il s'en trouve toujours quelques-uns qui ont été fendus suivant leur longueur. Ils se présentent alors sous la forme d'un ruban strié en long et en travers; la substance granuleuse centrale et les noyaux qu'elle contenait ont été mis en liberté au moment où le tube musculaire s'est ouvert.

Partant de cette dernière observation, si l'on examine attentivement les faisceaux musculaires embryonnaires, on ne tarde pas à se convaincre que le cylindre granuleux central n'est pas exactement enveloppé par la couche striée périphérique. Celle-ci semble écartée par places, pour laisser arriver jusqu'à la surface de l'élément le protoplasma formateur.

Les coupes transversales des muscles en voie de développement doivent être pratiquées sur les muscles durcis à l'aide d'une des méthodes qui ont été indiquées, mais la meilleure consiste à placer le muscle successivement dans l'alcool, la gomme et l'alcool, à colorer ensuite les coupes avec le picrocarminate et à les éclaircir avec de la glycérine.

Dans ces préparations, les faisceaux musculaires coupés en travers présentent à leur périphérie une couronne ou un anneau dans lequel on

aperçoit la section des fibrilles musculaires, et à leur centre la masse protoplasmique avec ou sans noyaux, suivant le niveau de la coupe.

Nous avons vu qu'à l'état adulte les noyaux des faisceaux musculaires des mammifères sont placés au-dessous du sarcolemme, par conséquent à la périphérie du faisceau, et comme pendant la période embryonnaire ils en occupaient le centre, il faut qu'à une certaine phase du développement ils aient quitté leur situation primitive pour gagner la périphérie. Ce transport s'effectue très probablement de la façon suivante : de nouvelles couches musculaires s'ajoutant successivement au dedans des premières, les noyaux sont nécessairement refoulés dans les fentes dont nous avons parlé il y a un instant; ils les traversent et arrivent à la surface du faisceau.

Le développement des faisceaux primitifs des muscles chez la grenouille présente un grand intérêt, parce qu'à l'état adulte ces faisceaux contiennent des noyaux disséminés dans leur substance, tandis que chez les très jeunes embryons du même animal les faisceaux primitifs possèdent seulement des noyaux marginaux. Il se produit donc chez la grenouille un phénomène de transport des noyaux précisément en sens inverse de celui que l'on observe chez les mammifères.

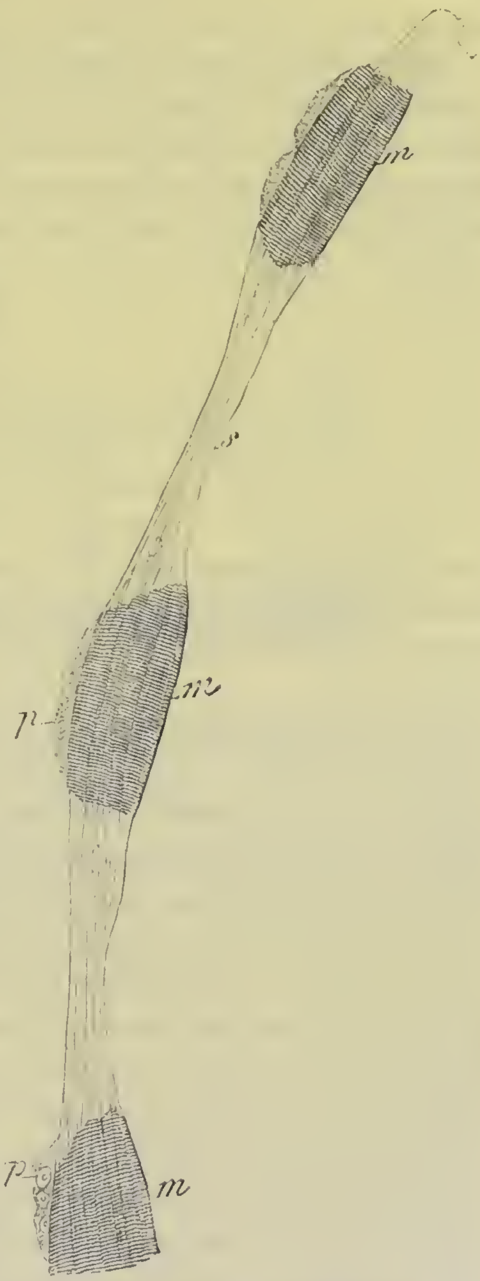


Fig. 192. — Muscle polygastrique de la queue d'un têtard de vingt-cinq jours. Isolation après l'action de l'acide osmique à 1 pour 500. Conservation dans la glycérine. — *m*, faisceaux musculaires; *p*, masse protoplasmique marginale; *s*, tendon. — 140 diam.

Prenons un têtard de grenouille rousse (*Rana temporaria*) au moment où, contenu encore au milieu de la substance gélatineuse de l'œuf, il s'agite pour en sortir, ce qui se produit d'habitude sept jours après la fécondation. Plaçons-le dans deux ou trois centimètres cubes d'alcool au tiers. Vingt-quatre heures après, dissocions la partie caudale dans le même liquide avec des aiguilles sur la lame de verre porte-objet; ajoutons une goutte de picrocarminate à 1 pour 100 et recouvrons d'une lamelle, en la supportant sur de petites cales de papier pour éviter la compression.

Nous observerons dans cette préparation des cellules allongées tout à fait

isolées ou réunies en petits faisceaux, présentant deux parties distinctes : le corps de la cellule et une bordure nettement striée à la façon des muscles (fig. 191).

Le corps de la cellule contient des granulations vitellines colorées en rouge-brun par le picrocarminate, pressées les unes contre les autres, et deux, trois ou un nombre plus considérable de gros noyaux vésiculeux, colorés en rose et munis d'un ou plusieurs nucléoles.

Dans les jours suivants, la couche striée, qui était extrêmement mince, atteint une épaisseur de plus en plus grande ; vers le vingt-cinquième jour, elle a acquis un grand développement, tandis que la matière primitive de la cellule forme sur un de ses côtés une sorte de sac dans lequel on distingue les noyaux ; les granulations vitellines ont complètement disparu. A cette période, les muscles de la queue du têtard sont constitués par une série de ces cellules réunies les unes aux autres par des tendons rudimentaires, de telle sorte qu'ils peuvent être considérés comme polygastriques (voy. fig. 192).

Chacun des faisceaux musculaires se développe aux dépens d'une seule cellule. Les cylindres primitifs qui y sont déjà bien marqués se terminent en pointes. Entre eux se montrent des noyaux semblables à ceux qui étaient d'abord dans la masse cellulaire primitive. Ils ont été englobés au fur et à mesure que la substance musculaire s'est formée. Ils prennent ensuite la forme que nous leur connaissons dans les faisceaux de la grenouille adulte.

DU SPECTRE PRODUIT PAR LES MUSCLES STRIÉS

Les stries transversales des faisceaux musculaires agissent sur la lumière blanche comme les réseaux pour produire un spectre de diffraction [1]. Lorsque l'on veut observer le spectre donné par les muscles, il faut procéder de la façon suivante : chez un lapin, immédiatement après la mort de l'animal, un ou deux faisceaux secondaires d'un muscle blanc sont isolés avec ménagement et placés sur une lame de verre. Ils y sont convenablement étalés sans addition d'aucun liquide et recouverts d'une lamelle dont les bords sont ensuite lutés avec de la paraffine, pour prévenir l'évaporation. En regardant cette préparation à contre-jour, on voit déjà une irisation comme celles de la nacre ; mais, pour observer dans toute leur beauté les spectres produits par les muscles, il faut se placer au fond d'un appartement dont on a fermé les volets de manière à ne laisser passer la lumière que par une fente. La préparation de muscle est alors mise au-devant et très près de l'œil de l'observateur, les faisceaux primitifs étant orientés de manière que leur axe soit perpendiculaire à la fente laissée par les volets de l'appartement. Il apparaît alors de chaque côté de cette fente un, deux ou trois spectres disposés symétriquement et dont les premiers sont les plus brillants et les moins étendus.

1. Les réseaux dont se servent les physiciens pour produire des spectres sont constitués par des stries très fines tracées au diamant sur une lame de glace. Ces stries doivent être parallèles et équidistantes. L'étendue du spectre produit par un réseau est d'autant plus grande que les stries sont plus rapprochées, et cela sans un rapport déterminé.

Les muscles de la grenouille, et principalement le muscle couturier, dont tous les faisceaux sont bien parallèles, conviennent aussi pour ce genre d'observation. Avec ce muscle, on fait des préparations persistantes dont on peut se servir pour des études spectroscopiques.

L'ayant enlevé avec soin, on le fait sécher après l'avoir régulièrement tendu avec des épingles sur une lame de liège. Lorsque la dessiccation est complète, les deux faces du muscle sont régularisées en les rabotant avec un scalpel bien tranchant, et en opérant comme le fait un menuisier d'une planche qu'il veut dresser. Pour obtenir une préparation définitive, il suffit de l'imbiber d'essence de térébenthine et de le monter dans le baume du Canada.

Au moyen de cette préparation, on peut réaliser l'observation spectroscopique du sang. Pour cela, nous avons fait construire un appareil (fig. 195),

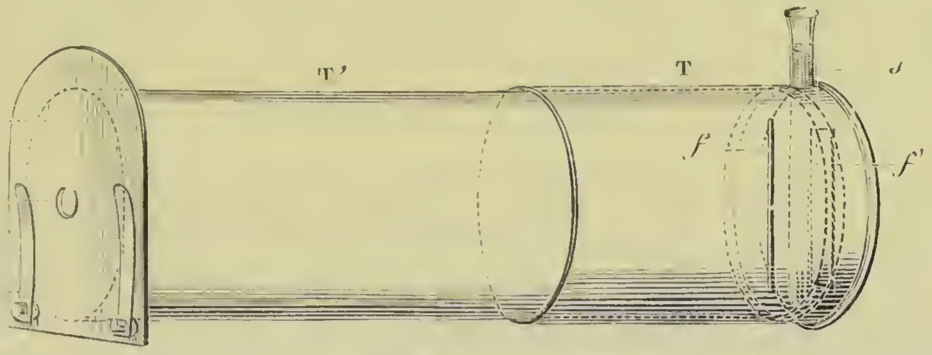


Fig. 195. — Myospectroscope.

p, platine sur laquelle on fixe la préparation de muscle à l'aide de valets *v*; T', tube principal, à l'une des extrémités duquel se trouve la fente *f* du spectroscope; T, tube que l'on ajoute pour l'examen spectroscopique du sang, et à l'extrémité libre duquel se trouve la fente *f'*, dans laquelle est engagé le tube à analyse *s*, contenant la solution de sang.

formé d'un tube T' noirci à l'intérieur, ayant 12 centimètres de longueur et 4 centimètres de diamètre. Il est fermé à l'une de ses extrémités par un diaphragme muni d'une fente verticale *f*, dont la largeur est d'un demi-millimètre. L'autre extrémité porte un diaphragme percé d'un trou central *o*, de 5 millimètres de diamètre. Une préparation de muscle est disposée au-devant de ce dernier trou et y est fixée au moyen des valets *v*, de telle sorte que l'axe des faisceaux musculaires soit perpendiculaire à la fente *f*. En regardant alors à travers le trou, tandis que l'instrument est dirigé vers un point lumineux, on aperçoit des spectres à gauche et à droite de la fente.

Pour observer les bandes d'absorption de l'hémoglobine (voy. p. 166), il faut faire traverser une couche de sang à la lumière qui arrive dans le myospectroscope. Dans ce but, cet instrument est complété par un tube T, qui enveloppe le premier et glisse sur lui avec frottement. Ce second tube est muni à son extrémité d'un diaphragme présentant, suivant son diamètre vertical, une large fente *f'* dans laquelle on engage un tube à analyse *s*, contenant une dilution convenable de sang.

Pour faire l'examen spectroscopique du sang à l'aide de cet appareil, la préparation de muscle étant fixée et orientée comme il a été dit plus haut, on éclaire soit avec une lampe, soit avec un point lumineux du ciel, de manière à apercevoir nettement un des spectres. Puis on adapte le tube à

analyse, dans lequel on a mis du sang dilué. Si la préparation est bonne, on voit nettement les deux bandes d'absorption de l'hémoglobine oxygénée. Dès lors, l'observation de l'hémoglobine réduite sera facile (voy. p. 166).

En partant de cette notion qu'un spectre produit par un réseau est d'autant plus étendu que les stries de ce réseau sont plus rapprochées, on est conduit à rechercher si au moment de sa contraction un muscle donne un spectre plus étendu que lorsqu'il est à l'état de repos. Voici comment il faut faire l'expérience :

Chez une grenouille, la moelle épinière est détruite au moyen d'un stylet pour amener l'immobilisation complète de l'animal. Les muscles de la cuisse sont découverts. Le tendon postérieur du couturier est divisé transversalement au niveau de son attache au tibia. En le saisissant avec une pince, il est facile, au moyen de quelques coups de ciseaux, de détacher le muscle et de l'isoler dans toute sa longueur, tout en le laissant fixé par son insertion supérieure. Prenant alors d'une main la grenouille et de l'autre l'extrémité du couturier, on tend horizontalement ce dernier au-devant de l'œil, en se plaçant, comme nous l'avons dit, au fond d'une chambre où la lumière ne pénètre que par une fente étroite. Dans ces conditions, le couturier, qui convient très bien pour l'examen spectrométrique à cause de sa minceur et de sa forme rubanée, donne, dans les conditions indiquées plus haut, des spectres fort nets. Si on l'étend par une légère traction, les spectres deviennent plus étroits et se rapprochent de la fente lumineuse. S'il survient une contraction dans le muscle sous l'influence de l'irritation produite par la traction et qu'on le laisse revenir sur lui-même, les spectres deviennent plus étendus et s'éloignent de la fente. Cette étendue augmente encore si, tout en tenant le muscle près de l'œil, on l'excite par un courant interrompu qui l'amène à son maximum de raccourcissement.

Tendu ou non tendu, en pleine activité ou dans les états intermédiaires entre le repos et la contraction la plus énergique, le muscle donne toujours des spectres. Dans tous ces états, il conserve donc sa striation transversale.

Les muscles de différents animaux, étudiés dans les mêmes conditions, ne donnent pas des spectres indentiques; par exemple ceux des muscles de grenouille sont plus larges que ceux des muscles blancs du lapin dans la proportion de 9 à 7. La striation transversale est donc plus fine chez la grenouille que chez le lapin. C'est, du reste, ce que l'on constate à l'aide du microscope.

MUSCLES LISSES

Les muscles lisses existent chez l'homme, chez les mammifères et chez un grand nombre d'autres animaux. Ils sont essentiellement constitués par des cellules fusiformes connues sous le nom de fibres-cellules contractiles. On appelle quelquefois aussi ces muscles, muscles de la vie organique ; mais cette expression est inexacte, parce que d'une part le cœur, qui appartient à la vie organique, contient des fibres d'une tout autre structure, et que

d'autre part, chez un grand nombre d'animaux inférieurs, les muscles de la vie animale sont formés aussi de cellules musculaires lisses et fusiformes.

Les premières notions exactes sur la constitution histologique des muscles lisses nous ont été fournies par Kölliker[1], qui, en isolant la cellule musculaire, a démontré qu'elle constitue leur élément essentiel. Nous avons placé l'étude de ces muscles après celle du développement des muscles striés, parce que la fibre-cellule complètement formée peut être comparée à un faisceau primitif strié de mammifères au début de sa formation, alors que, constitué par une cellule fusiforme munie d'un noyau à son centre, il ne possède pas de sarcolemme et n'est pas encore strié.

Le tissu musculaire lisse se trouve dans un très grand nombre d'organes, mais on ne peut le reconnaître sans le secours du microscope que là où il se présente en masses, comme dans le tube digestif, la vessie et l'utérus. Lorsqu'il est disséminé au milieu du tissu conjonctif ou bien lorsqu'il forme des couches minces, on ne peut en constater la présence à l'œil nu, et c'est pour cela que les anatomistes anciens ne s'étaient pas rendu compte de toute son étendue.

Ainsi Bichat l'avait reconnu seulement dans le tube digestif, la vessie et l'utérus. Il n'en soupçonnait pas l'existence dans la tête. « La tête, dit-il, ne renferme point de division du système musculaire organique. Cette région du corps est toute consacrée aux organes de la vie animale[2]. »

Le tissu musculaire lisse forme des couches continues dans l'estomac et les intestins. Dans les voies respiratoires, il entre dans la structure des bronches et du parenchyme pulmonaire. On le rencontre abondamment dans la vessie, les uretères, la prostate, les vésicules séminales; dans l'utérus, les trompes et les ligaments ronds. Dans la peau, il existe au mamelon et à son aréole, et, sous forme de petits faisceaux distincts, il est annexé aux follicules pileux. Dans l'œil, il constitue le muscle ciliaire et les muscles de l'iris. Enfin, il entre dans la constitution des artères, des veines et des troncs lymphatiques.

Pour étudier ce tissu, il est certains organes que l'on doit prendre de préférence, par exemple, la vessie, l'intestin et l'estomac de la grenouille; chez les mammifères, la tunique musculaire de l'intestin et l'utérus. On emploie des méthodes différentes suivant que l'on se propose d'examiner les fibres-cellules isolées, ou que l'on veut étudier le tissu dans son ensemble, ou encore reconnaître les rapports des éléments musculaires avec le tissu conjonctif, les vaisseaux et les nerfs.

Étude des fibres-cellules isolées. — Pour constituer un muscle lisse, les cellules sont si solidement soudées entre elles que, si on cherche à les isoler avec les aiguilles à l'état frais, on n'obtient que des lambeaux irréguliers dans lesquels on aperçoit vaguement quelques noyaux. Si le tissu a été coloré à l'aide du carmin ou du picrocarminate, et qu'après avoir enlevé

1. *Kölliker*, Beiträge zur Kentniss der glatten Muskeln, *Zeitschr. f. wissensch. Zoologie*, 1848, p. 48.

2. *Bichat*, Anatomie générale, 1812, t. III, p. 559.

l'excès de la matière colorante ou fasse agir de l'acide acétique, les noyaux sont colorés en rouge et se montrent d'une manière plus évidente. Ils ont une forme qui est considérée généralement comme caractéristique : ils sont très longs et en zigzag.

Les cellules musculaires sont unies d'une manière intime par une substance cimentante, ainsi qu'il ressortira de l'étude que nous ferons de la structure du tissu dans son ensemble. Pour isoler ces cellules, il fallait donc trouver un réactif qui, tout en leur conservant leur forme, pût dissoudre le ciment. L'acide azotique à 20 pour 100, que Kölliker a employé à cet usage, lui a fait découvrir la fibre-cellule. Un petit fragment de l'intestin, de la vessie, de l'utérus ou de tout autre organe contenant des fibres musculaires lisses, placé pendant vingt-quatre heures dans quelques centimètres cubes de ce mélange, est mis ensuite dans l'eau distillée et dissocié avec des aiguilles. On peut aussi placer les fragments qui ont été soumis à l'action de l'acide azotique dans un tube à expérience rempli à moitié d'eau, que l'on secoue violemment après l'avoir bouché. On voit alors le morceau de muscle se dissocier d'une manière complète en donnant des éléments qui forment un dépôt au fond du vase. Une petite portion de ce dépôt, enlevée avec une pipette et déposée sur une lame de verre, fournit une préparation dans laquelle on trouve un nombre considérable de cellules musculaires.

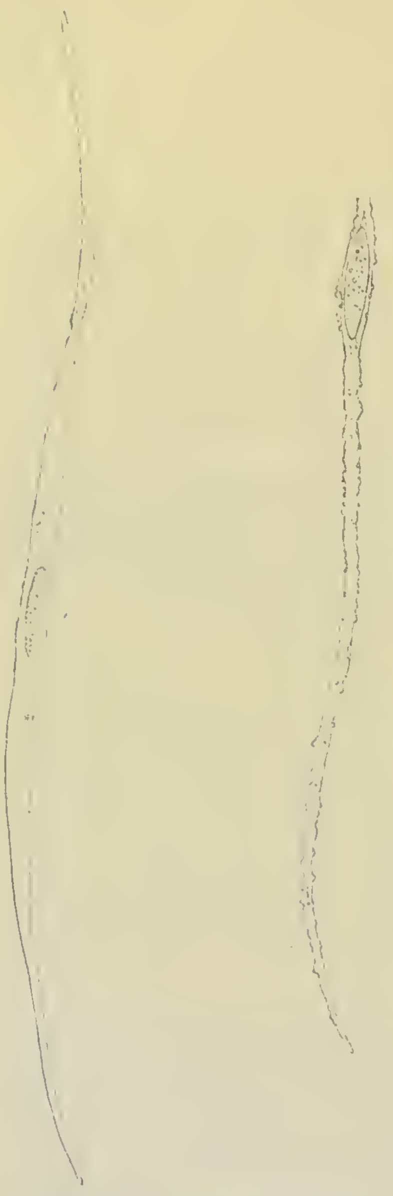


Fig. 194. — Cellules musculaires lisses de l'intestin d'un lapin, isolées après macération pendant vingt-quatre heures dans l'acide azotique à 20 pour 100. — 350 d.

On peut aussi, mais plus difficilement, obtenir la dissociation des cellules musculaires, après une macération de vingt-quatre heures dans une solution d'acide acétique de 1 à 4 pour 100, dans l'acide chlorhydrique à 1 ou 2 pour 1000, dans le sérum iodé, dans l'alcool au tiers, dans l'acide chromique à 1 pour 10000, dans les bichromates de potasse ou d'ammoniaque à 1 pour 1000. Enfin, au moyen du réactif de Moleschott (la potasse à 35 ou 40 pour 100), on arrive à une dissociation aussi complète et beaucoup plus rapide qu'avec l'acide azotique. Un fragment de muscle lisse, placé dans 1 ou 2 centimètres cubes de la solution de potasse, se dissocie entièrement au bout de quelques minutes.

L'acide azotique et la potasse conviennent pour découvrir les cellules musculaires lisses dans les organes où elles sont en petit nombre et mas-

quées par des couches de tissu conjonctif. Les autres méthodes, c'est-à-dire la macération dans les solutions faibles d'acide chromique ou de bichromates, dans le sérum iodé et l'alcool au tiers, sont au contraire applicables à la dissociation des masses musculaires bien définies, comme celles qui existent dans l'utérus et l'intestin. En colorant ensuite les fibres avec le picrocarminate ou l'hématoxyline, on obtient des préparations démonstratives.

Pour faire ces dernières préparations, il est encore une méthode qui donne de très bons résultats. Le tissu est d'abord placé dans une solution de bichromate de potasse ou d'ammoniaque à 2 pour 100; lorsqu'il y a séjourné vingt-quatre heures, on le met pendant un ou deux jours dans l'eau distillée, additionnée d'acide phénique pour éviter le développement des bactéries; il se laisse ensuite facilement dissocier.

Les cellules musculaires sont renflées à leur milieu et se terminent par des extrémités effilées. Quelques-unes seulement sont régulièrement fusiformes; en général elles présentent suivant leur longueur des plans et des arêtes provenant de pressions exercées sur elles par les parties voisines. D'autres sont aplaties et comme rubanées, de telle sorte que de face elles paraissent larges, tandis que de profil elles semblent filiformes, excepté en leur milieu où elles sont renflées. Chez quelques-unes, l'une des extrémités ou les deux sont bifurquées ou trifurquées; chacune des divisions se termine par une pointe.

La longueur des cellules varie entre 20 μ et 50 μ. Leurs bords présentent des irrégularités et même des protubérances ou des sortes d'épines plus ou moins nombreuses et plus ou moins longues, bien marquées dans des préparations faites au moyen de l'acide azotique ou mieux des bichromates. Quelques cellules sont repliées en zigzag; cette dernière forme est tout à fait accidentelle, elle doit être attribuée au retrait des éléments au moment où le réactif les a fixés.

La substance de la cellule est réfringente et paraît homogène dans les faisceaux musculaires vivants. On y voit des stries longitudinales après l'action de l'acide azotique, des solutions chromiques et de l'alcool. Ce dernier réactif surtout la montre très nettement fibrillaire.

A peu près au milieu de leur longueur, les cellules musculaires possèdent un noyau ovoïde, allongé. Après l'action de l'acide azotique, ce noyau paraît granuleux et ses véritables nucléoles sont masqués. Ceux-ci se montrent au contraire d'une manière très nette, surtout après coloration par le carmin, lorsque la dissociation a été faite à l'aide de l'alcool ou des acides faibles. Leur existence a été signalée par Piso-Borme[1] d'abord, puis par Hessling et Frankenhaeuser, et dans ces derniers temps J. Arnold[2] leur a attribué une grande importance au point de vue de la terminaison des nerfs; nous aurons l'occasion d'y revenir plus tard.

Autour du noyau de la cellule musculaire, se trouve du protoplasma granu-

1. *Piso-Borme*, voir Manuel de Stricker, p. 140.

2. *Arnold*, Gewebe der organischen Muskeln, *Handbuch der Lehre von den Geweben, herausgegeben von S. Stricker*. Leipzig, 1871, p. 140 (voir dans ce travail, p. 139 et 140, les indications des travaux de V. Hessling et de Frankenhaeuser).

leux qui le sépare de la substance contractile. Ce protoplasma se trouve en plus grande abondance aux deux extrémités du noyau et s'étend plus ou moins loin dans l'axe de la cellule.

La cellule musculaire est un faisceau de fibrilles; elle correspond ainsi morphologiquement au faisceau primitif des muscles striés. Nous avons donc à nous demander si elle n'est pas, comme le faisceau primitif, entourée d'une enveloppe, si elle n'a pas un sarcolemme. Les méthodes que nous avons suivies pour examiner la structure de cette cellule ne nous ont pas permis de voir quelque chose d'analogue à une membrane enveloppante. De plus, aucun auteur n'a signalé un fait quelconque qui pourrait faire croire à son existence. Il est donc probable que cette membrane n'existe pas et que la cellule n'a d'autre limite que sa propre substance.



Fig. 195. — Artériole du grand épiploon du lapin, comprise dans la membrane traitée par le bichromate d'ammoniaque, puis par le picrocarminate. — B, vaisseau examiné, l'objectif étant mis au point sur la coupe optique de son bord. Les cellules musculaires laissent voir leurs noyaux et les champs qui les entourent. — A, l'objectif est mis au point sur la surface supérieure. On y reconnait des groupes de fibrilles ou cylindres primitifs vus suivant leur longueur. — 250 diam.

Une seconde question qui se présente à nous est celle-ci : Quel est, dans la cellule musculaire, le rapport des parties constituantes : le noyau, le protoplasma central et la substance musculaire proprement dite ?

A propos de cette substance musculaire que nous avons vue composée d'un paquet de fibrilles, et en nous laissant guider, comme dans la première question, par l'analogie morphologique avec les muscles striés, nous devons nous demander si ces fibrilles sont groupées en un seul faisceau, ou si la masse musculaire de la cellule ne serait pas composée de plusieurs faisceaux, analogues aux cylindres primitifs des fibres musculaires striées.

Comme nous l'avons vu, les cylindres primitifs forment, sur la coupe transversale des muscles striés, des champs polygonaux, champs de Cohnheim. Remarquons-nous quelque chose d'analogue à ces champs sur la coupe transversale des muscles lisses?

La préparation qu'il faut faire pour constater que cette disposition existe est facile à réaliser.

Le grand épiploon d'un lapin (il vaut mieux choisir pour cette expérience un animal maigre) est plongé dans une solution de bichromate d'ammoniaque pendant vingt-quatre heures; puis il est lavé à l'eau distillée et coloré soit avec le picrocarminate, soit avec la purpurine. La préparation est montée dans la glycérine.

Les cellules musculaires des petites artères que l'on observe dans la membrane sont disposées en une couche simple. Sur les bords du vaisseau, ces

cellules présentent leur coupe optique, tantôt prise à leur milieu et montrant par conséquent le noyau, tantôt dans un point plus ou moins rapproché de l'une des extrémités.

Si nous examinons une cellule dont la coupe optique correspond à sa partie moyenne, nous observons d'abord le noyau coloré assez vivement, autour de lui une petite zone protoplasmique incolore et à la périphérie une série de cercles légèrement colorés, disposés les uns à côté des autres et représentant autant de champs distincts. Ces champs sont séparés par des cloisons qui partent de la masse protoplasmique centrale.

Étude du tissu musculaire lisse. — Pour étudier, sans y faire de coupes, le tissu musculaire lisse, on peut choisir les membranes minces qui en contiennent, comme la vessie de la grenouille, les tuniques de l'intestin ou la paroi des veines du lapin.

Parmi tous ces organes, la vessie de la grenouille est celui qui permet d'obtenir le plus facilement et le plus rapidement de bonnes préparations.

Enlevée à l'animal fraîchement tué, elle est placée d'abord dans de l'alcool au tiers (voy. p. 68). Lorsqu'elle y a séjourné pendant quelques heures, elle est mise dans l'eau, largement ouverte avec des ciseaux, lavée au pinceau pour en chasser l'épithélium, puis tendue sur une lame de verre, en suivant le procédé de la demi-dessiccation (voy. p. 65). On peut alors la colorer avec du picrocarminate, et le réseau qu'y forment les fibres musculaires est d'autant plus apparent que ses travées sont colorées en jaune, tandis que les noyaux sont colorés en rouge. Mais, pour observer certains détails de structure qu'il importe de déterminer tout d'abord, il convient d'employer la coloration à l'hématoxyline. A cet effet, lorsque la vessie est régulièrement tendue sur la lame de verre par le procédé de la demi-dessiccation, on laisse tomber sur sa surface quelques gouttes d'une solution d'hématoxyline chargée de matière colorante (voy. p. 91). Sous l'influence de l'alun et de l'alcool que contient cette solution, la membrane est fixée; on l'enlève et on la plonge dans la même solution où elle doit rester douze à quinze heures, afin que la coloration soit très intense; puis elle est lavée avec le pinceau afin d'enlever le dépôt grumeleux de matière colorante qui se produit souvent après cette réaction. La membrane est alors régulièrement étalée sur une lame de verre et montée en préparation, soit dans la glycérine, soit dans le baume du Canada.

Les cellules musculaires colorées en bleu forment par leur réunion des faisceaux qui s'anastomosent pour constituer un réseau dont les travées ont des diamètres très inégaux. Le noyau des cellules est coloré en bleu foncé; leur corps présente une couleur bleue moins intense mais suffisante, quand on a opéré comme nous venons de l'indiquer, pour qu'il soit possible d'en bien distinguer les limites. Pour former les faisceaux, elles sont engrenées les unes dans les autres, de telle sorte que l'extrémité effilée des unes vient se loger entre les parties renflées des autres, et réciproquement. On remarque alors que les bords de ces cellules ne se touchent pas, et qu'elles sont séparées les unes des autres par des bandes incolores et régulières. Ces bandes,

correspondant au ciment qui réunit entre elles les cellules musculaires, sont d'autant plus larges et d'autant plus marquées que l'extension a été plus complète.

On peut aussi obtenir de l'intestin de différents animaux vertébrés de bonnes préparations d'ensemble en remplissant d'alcool au tiers ou d'une solution faible de bichromate de potasse ou d'ammoniaque une anse d'intestin prise entre deux ligatures. Après un séjour de vingt-quatre ou quarante-huit heures dans le réactif qui a servi à distendre l'intestin, on enlève de la surface avec une pince de grands lambeaux qui contiennent d'habitude la couche péritonéale, la couche des fibres longitudinales et quelques faisceaux appartenant à la couche musculaire transversale. Ces lambeaux, colorés et étendus comme nous l'avons indiqué pour la vessie de la grenouille, montrent, entre autres

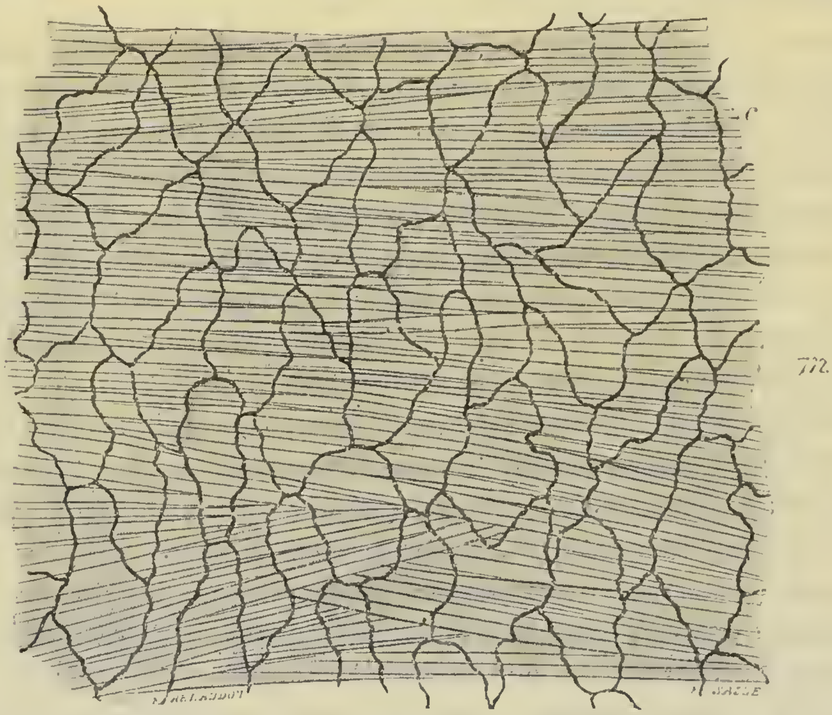


Fig. 195. — Veine jugulaire du lapin, imprégnée d'argent par injection limitée. Dessiccation. Éclaircissement dans l'essence de girofle. — *m*, fibres musculaires lisses dont les limites sont accusées par le dépôt d'argent; *c*, cellules endothéliales. — 250 diam.

détails, les plans musculaires avec leurs cellules munies de noyaux et leur substance intercellulaire incolore bien nette, lorsque l'on a employé l'hématoxyline.

Si l'anse intestinale prise entre deux ligatures a été remplie d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 1000 et plongée ensuite dans une solution à 1 pour 500 du même sel, on distingue, dans des lambeaux enlevés de la surface, lorsque l'imprégnation a été produite, les cellules musculaires incolores ou faiblement teintées, séparées par des lignes noires produites par le dépôt d'argent dans le ciment intercellulaire.

L'imprégnation de la substance intercellulaire de la tunique musculaire des vaisseaux se produit facilement par injection de tout le système vasculaire (voy. *Vaisseaux sanguins*). On obtient de fort belles préparations de la veine jugulaire du lapin, à cause de la minceur de sa paroi. Voici com-

ment il faut procéder : cette veine étant dégagée dans toute sa longueur, on y applique une ligature à la partie supérieure du cou, on y fait une petite incision longitudinale à la partie inférieure, et, lorsqu'elle a été vidée de tout le sang qu'elle contenait, au moyen d'une pipette introduite par l'ouverture et fixée avec un fil, on la distend en y injectant une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Lorsque l'imprégnation est produite, la solution de nitrate est enlevée, et la veine, insufflée et fermée par une seconde ligature, est enlevée et soumise à la dessiccation. Quand elle est sèche, on en découpe des portions qui sont étalées sur une lame de verre, éclaircies à l'essence de girofle et montées dans le baume du Canada.

Au-dessous de l'endothélium, les fibres musculaires apparaissent comme des figures allongées, claires, séparées par des lignes noires formées par le dépôt d'argent dans le ciment intercellulaire (fig. 196). D'ordinaire, les noyaux ne sont pas apparents.



Fig. 197. — Coupe transversale des fibres musculaires de l'intestin du chien, après durcissement par la gomme et l'alcool. Coloration au picrocarminate. — *c*, cellules ; *n*, noyau. — 520 d.

Pour acquérir des notions plus complètes sur les rapports des cellules musculaires, sur les faisceaux qu'elles forment et sur leurs relations avec le tissu conjonctif et les vaisseaux, il faut examiner des coupes faites dans diverses directions sur le tissu durci ou desséché.

On emploie avec avantage la dessiccation pour l'étude des couches musculaires de l'intestin, des vaisseaux et de la peau, parce que la minceur et la disposition des parties constitutives de ces organes permettent d'obtenir une dessiccation rapide. Les coupes seront faites dans des directions déterminées d'avance, et, après qu'elles auront été ramollies dans l'eau, elles seront colorées par du picrocarminate et conservées dans de la glycérine contenant 1 pour 100 d'acide formique.

Pour obtenir du tissu musculaire lisse des coupes qui permettent l'observation des parties les plus délicates, il faut avoir recours à la congélation[1], faire la section perpendiculairement à la direction des fibres et examiner les préparations soit dans le sérum légèrement iodé, soit dans une solution d'acide chromique à 1 pour 10 000.

Pour donner aux organes contenant des fibres musculaires lisses un durcissement convenable, on peut aussi employer l'alcool, l'acide picrique et les bichromates de potasse ou d'ammoniaque, seuls ou combinés à l'action de la gomme et de l'alcool (voy. *Méthodes générales*). La coloration se fera soit avec le carmin, soit avec le picrocarminate, soit avec la purpurine, et les préparations seront examinées dans la glycérine ou, après déshydratation et éclaircissement, dans le baume du Canada.

Dans les coupes transversales, les cellules musculaires se montrent sous la forme de champs polygonaux de diamètres inégaux, séparés les uns des

1. *Arnold*, Gewebe der organischen Muskeln. *Stricker's Handbuch*, p. 137.

autres par des bandes de substance intercellulaire dont la réfringence est moindre que celle des cellules musculaires elles-mêmes. Aussi deviennent-elles brillantes quand on rapproche l'objectif, obscures quand on l'éloigne, tandis que dans cette dernière condition les champs qui correspondent à la section des fibres musculaires deviennent brillants.

Dans certains de ces champs, on voit un noyau, tandis que d'autres n'en présentent pas. Cette différence, ainsi que la variété de dimension de champs, tient à ce que, dans un faisceau musculaire, les cellules sont étagées d'une façon très irrégulière, de telle sorte que, sur une tranche transversale, les unes sont coupées au voisinage d'une de leurs extrémités, tandis que les autres sont atteintes au niveau de leur renflement et de leur noyau.

Les rapports des cellules musculaires avec le tissu conjonctif et avec les vaisseaux sont très variables. Lorsqu'elles constituent des faisceaux distincts, ces faisceaux sont entourés de tissu conjonctif absolument comme les faisceaux primitifs des muscles striés, et les vaisseaux sanguins s'y ramifient et forment un réseau à mailles allongées suivant le sens des fibres, ainsi qu'on peut facilement l'observer dans les tuniques musculaires de l'intestin injecté. L'intestin grêle du chien, dont les tuniques musculaires sont épaisses, convient pour cette étude.

Dans une coupe transversale de l'intestin, les capillaires de la couche musculaire longitudinale sont sectionnés en travers et forment autant de petits cercles entre les faisceaux, tandis que le réseau capillaire de la couche circulaire apparaît suivant sa longueur et forme des mailles allongées.

Dans la tunique moyenne de l'aorte, les cellules musculaires sont isolées ou groupées en petit nombre dans un réseau élastique. Nous en ferons l'étude à propos du système vasculaire. Nous renvoyons également au chapitre destiné aux vaisseaux sanguins ce que nous aurions à dire des rapports des cellules musculaires dans les artérioles, nous bornant à indiquer qu'elles y forment une couche continue sans interposition de tissu conjonctif et par conséquent de capillaires sanguins.

Pour la terminaison des nerfs dans les muscles lisses et les méthodes spéciales à employer pour en faire l'étude, voir le chapitre : *Système nerveux, terminaison des nerfs*.

SYSTÈME VASCULAIRE SANGUIN

Le système vasculaire a sa place indiquée à côté de celle du système musculaire, parce que les fibres-cellules entrent dans la constitution des artères et des veines, et parce que l'organe central de la circulation, le cœur, est un muscle. Nous l'étudierons d'abord. Les artères, les veines et les capillaires formeront à la suite autant de chapitres spéciaux.

CHAPITRE IX

CŒUR

Le cœur est un organe complexe où les éléments musculaires entrent pour la plus grande part. Nous nous occuperons d'abord du muscle cardiaque, puis, pour ne pas faire de divisions inutiles, nous passerons à la description de l'endocarde, des valvules et du péricarde.

MUSCLE CARDIAQUE

Il y a dans le cœur plusieurs espèces d'éléments musculaires : dans l'endocarde, des fibres musculaires lisses; sous l'endocarde d'un certain nombre d'animaux, des fibres particulières qui portent le nom de fibres de Purkinje; enfin, les fibres myocardiques proprement dites. Ces fibres sont striées transversalement comme celles des muscles des membres; mais comme les faisceaux des muscles lisses, elles sont constituées par plusieurs cellules soudées entre elles. Le muscle cardiaque forme donc une espèce à part au point de vue histologique, aussi bien qu'au point de vue physiologique.

Nous reviendrons sur les fibres-cellules de l'endocarde à propos de ce dernier, mais nous décrirons les fibres de Purkinje avant celles du muscle cardiaque, parce que leur constitution cellulaire bien nette nous conduira à mieux comprendre celle du myocarde.

Fibres de Purkinje. — Il y a déjà longtemps que Purkinje[1] a découvert ces fibres; on les rencontre chez le bœuf, le mouton, la chèvre, le cochon et d'autres animaux; mais le mouton est celui qui convient le mieux pour les étudier. Chez les moutons gras, il existe une couche plus ou moins épaisse de cellules adipeuses dans le tissu connectif qui double l'endocarde des ventricules. Les fibres de Purkinje y apparaissent comme de petits cordons translucides, anastomosés les uns avec les autres et formant un réticulum dont les mailles sont de grandeur variable. Chez les moutons où il n'y a pas de graisse sous l'endocarde, le réseau des fibres de Purkinje tranche moins par sa translucidité et forme à la surface interne du cœur un léger relief.

Lorsque l'on veut acquérir les premières notions sur la structure de ces

1. En 1845, Purkinje, à la fin d'un mémoire intitulé *Observations microscopiques sur la névrologie* (Microscopich-neurologische Beobachtungen, *Müller's Arch.*, 1845, p. 281), dans lequel il décrit ses recherches sur les fibres nerveuses du cœur, a signalé sous l'endocarde du mouton un réseau de filaments gris gélatiniformes, qui tantôt sont appliqués sur la paroi interne du cœur, tantôt passent sur les fentes de cette paroi. Au microscope, il les vit formés de cellules polyédriques par pression réciproque. Entre ces cellules, dans l'intérieur desquelles se montraient un ou deux noyaux, il vit un réseau de fibres striées qui n'en étaient pas indépendantes. Cherchant la signification histologique et physiologique de cet appareil, Purkinje, après avoir éloigné l'idée qu'il pourrait être composé soit de cellules ganglionnaires, soit de cellules cartilagineuses, arriva à penser qu'il était de nature musculaire.

fibres, il faut procéder de la façon suivante : après avoir circonscrit par des incisions superficielles une petite région de l'endocarde ventriculaire, on l'arrache en se servant de la pince, et on l'étend sur une lame de verre. En examinant ensuite la membrane à un faible grossissement, on constate que les fibres de Purkinje sont restées fixées à sa partie profonde. Souvent avec elles ont été enlevées quelques fibres du myocarde; il faut s'en débarrasser en s'aidant de la pince et des aiguilles. Après cette dernière opération, la membrane étant régulièrement étalée, sa face superficielle reposant sur la lame de verre, on ajoute du sérum iodé et on recouvre de la lamelle.

Les fibres de Purkinje se montrent alors constituées par des cellules polyédriques placées les unes à côté des autres comme dans un épithélium pavimenteux. Les plus fines sont formées d'une seule rangée de cellules, mais la plupart en possèdent plusieurs placées à côté et au-dessus les unes des autres. Ces cellules montrent sur leurs bords des stries longitudinales et transversales et à leur centre une masse protoplasmique granuleuse dans laquelle se voient un ou le plus souvent deux noyaux ovalaires munis de nucléoles.



Fig. 198. — Portion du réseau de Purkinje de l'endocarde ventriculaire du mouton, vue à la loupe. — *m*, maille du réseau; *o*, fibre du réseau; *g*, masse adipeuse.

Pour les étudier, il convient d'avoir recours à la méthode suivante : avec un rasoir, on enlève une portion de l'endocarde contenant des fibres de Purkinje et une faible épaisseur de la couche musculaire sous-jacente; le tout est placé dans quelques centimètres cubes d'alcool au tiers, et le lendemain il est facile de séparer complètement l'endocarde à l'aide d'une pince et des aiguilles et même, en poursuivant la dissociation, d'isoler complètement des fragments plus ou moins étendus du réseau de Purkinje. L'observation peut être faite dans le liquide qui a servi à la dissociation, ou bien on colore avec le carmin, le picrocarminate ou l'hématoxyline, et la préparation, montée convenablement dans la glycérine, devient persistante.

Dans les fragments de fibres de Purkinje isolées, les cellules marginales présentent une face libre et des faces adhérentes aux cellules voisines. Au niveau de ces dernières, on observe une bande de substance striée en travers et en long semblable à celle de tous les muscles striés. Comme l'union des cellules est intime, il est impossible de déterminer exactement leur limite; il en résulte qu'elles paraissent être contenues dans un réseau de fibres musculaires.

Il arrive souvent qu'une ou plusieurs des cellules du réseau ont été complètement isolées par la dissociation; elles apparaissent alors avec une striation bien nette sur toutes leurs faces, et dans leur intérieur se distinguent les noyaux dont il a été question, entourés d'une masse grenue contenant quelquefois des granulations pigmentaires.

Parmi les différentes méthodes que l'on peut employer pour démontrer la constitution uniquement cellulaire des fibres de Purkinje, il n'en est pas qui vaille la potasse à 40 pour 100. Nous avons déjà vu quelle est l'action de

ce réactif sur les faisceaux striés et sur les fibres musculaires lisses. En dissolvant les fibres connectives ou la substance cimentante, il décompose le tissu en ses individualités cellulaires.

Pour faire agir la potasse à 40 pour 100 sur les fibres de Purkinje et être témoin de son action, il faut détacher un lambeau de l'endocarde contenant de ces fibres, l'étendre sans le mouiller sur une lame de verre, ajouter une goutte de la solution de potasse, recouvrir d'une lamelle et faire l'examen. Au bout de quelques minutes, après avoir comprimé légèrement en appuyant avec une aiguille sur la lamelle de verre, on voit les fibres de Purkinje se résoudre en un certain nombre de blocs dont chacun correspond à une cellule et retient avec lui une partie correspondante de la substance striée. Cette observation, que chaque histologiste pourra reproduire facilement, renverse complètement la manière de voir émise par Lehnert[1], à savoir que la substance striée périphérique constitue un réseau musculaire indépendant, dans les mailles duquel sont simplement placées les cellules de Purkinje.

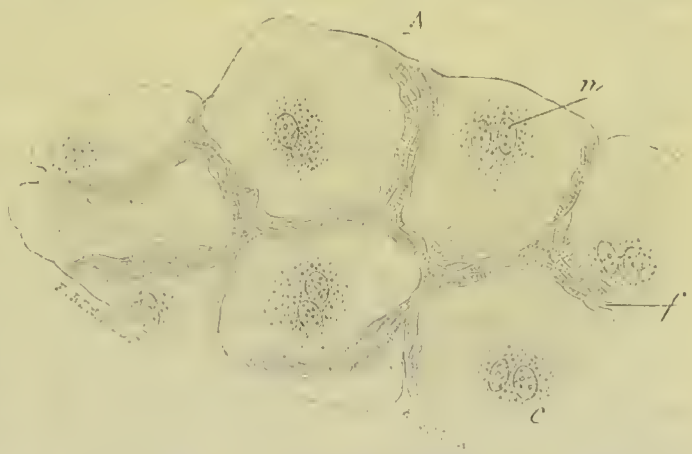


Fig. 199. — Fragment du réseau de Purkinje isolé après l'action de l'alcool au tiers. Coloration au picrocarminate. — *c*, cellule; *f*, substance striée; *n*, noyau. — 500 diam.

Dans les préparations d'ensemble obtenues après l'action de l'alcool au tiers et colorées soit avec le carmin, soit avec le picrocarminate, soit avec l'hématoxyline, il est facile de saisir les rapports des fibres cardiaques avec les fibres de Purkinje. Il y a continuité entre les deux ordres de fibres, comme cela a été déjà observé par von Hessling[2] et confirmé par tous les histologistes qui se sont occupés de la même question. Cette continuité s'établit de différentes façons : en général du réseau de Purkinje se dégage une branche qui se terminerait librement si de son extrémité ne partait une fibre cardiaque. Dans cette branche, qui d'ordinaire est constituée par une seule rangée de cellules, il est facile de saisir tous les intermédiaires entre la cellule de Purkinje et la cellule cardiaque dont nous parlerons bientôt.

Quelquefois, au lieu que les cellules du myocarde succèdent simplement en série non interrompue aux fibres de Purkinje, on voit plus loin, sur la même fibre, les cellules reprendre leur type primitif, en passant par une série de transformations successives inverses, de telle sorte qu'une fibre du myocarde se trouve établir la continuité entre deux fibres de Purkinje.

1. *Lehnert*, Ueber Purkinje'schen Fæden, *Arch. f. micr. Anat.*, 1868, p. 28.

2. *Von Hessling*. Histologische Mittheilungen, *Zeitschr. f. wissenschaftliche Zoologie*, 1854, p. 189.

L'interprétation des fibres de Purkinje ne présente aucune difficulté. Nous avons vu plus haut que les faisceaux musculaires striés des mammifères en voie de développement sont formés d'un cylindre de protoplasma contenant des noyaux et dont la surface est occupée par de la substance striée. Telle est, ainsi que nous venons de le voir, la constitution des cellules de Purkinje : elles représentent des fibres cardiaques embryonnaires.

Fibres du myocarde. — Comme les fibres de Purkinje, les fibres du cœur sont anastomosées entre elles de manière à constituer un réseau. Seulement, tandis que le réseau des fibres de Purkinje est le plus souvent dans un seul plan, les fibres du muscle cardiaque sont disposées sur un grand nombre de plans. Leeuwenhoek avait déjà reconnu que les fibres du cœur sont réticulées. Le réticulum que forment dans les auricules des différents mammifères les faisceaux musculaires qui en cloisonnent la cavité, donne une bonne idée de la façon dont à l'examen microscopique on voit les fibres du muscle cardiaque.

La structure intime de la fibre musculaire du cœur est la même dans les oreillettes et dans les ventricules seulement, le réticulum musculaire des oreillettes possède en général des mailles beaucoup plus larges. Aussi la paroi de ces dernières convient-elle mieux que celle des ventricules pour faire une première observation sur la réticulation du muscle cardiaque.

Une oreillette du cœur du lapin, détachée, placée sur une lame de verre dans du sérum iodé ou du picrocarminate, puis dissociée avec ménagement au moyen des aiguilles, fournit à ce point de vue de bonnes préparations. On y voit les fibres musculaires qui s'anastomosent et se séparent pour constituer un réseau à larges mailles. Ces fibres sont striées en long et en travers et présentent dans leur intérieur des noyaux elliptiques, qui ont leur grand diamètre dans l'axe de la fibre et sont entourés d'une masse granuleuse qui les sépare de la substance striée.

Il est beaucoup plus facile d'observer le réseau myocardique dans l'oreillette de la grenouille en procédant comme il suit. Le cœur est mis à nu (voy. page 152). Une canule est introduite dans le ventricule par une des aortes et fixée au moyen d'une ligature. Par cette canule, on injecte de l'eau salée à 7 pour 1000. Lorsque tout le sang a été chassé du cœur, les veines et la seconde aorte sont liées. On continue d'injecter et, lorsque le cœur est distendu, on le porte dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. En quelques minutes, sous l'influence de ce dernier réactif, les éléments sont fixés. Il reste à dégager les oreillettes et à isoler la cloison qui les sépare, ce qui se fait dans l'eau avec des ciseaux et en s'aidant d'une loupe. La cloison interauriculaire colorée au picrocarminate et montée dans la glycérine donne d'excellentes préparations.

Au lieu d'eau salée, on peut injecter dans le cœur un mélange à parties égales d'alcool et d'acide osmique à 1 pour 100. La fixation des oreillettes et de la cloison est immédiate. La coloration des éléments musculaires s'obtient ensuite facilement.

Pour reconnaître la disposition réticulée des fibres musculaires dans

l'épaisseur des ventricules des mammifères, il faut en pratiquer la dissociation par le procédé suivant : on entaille avec un rasoir le muscle cardiaque, et, saisissant les bords de l'incision avec les doigts, on l'agrandit par déchirure. Cette déchirure se fait suivant la direction générale des fibres. On en affranchit la surface au moyen d'une première incision faite avec le rasoir, et, par une seconde coupe parallèle à la première, on détache une lame mince du tissu. Cette lame, dissociée avec les aiguilles suivant les règles indiquées pour l'oreillette, fournit des préparations où les fibres musculaires forment des réseaux à mailles étroites, tandis qu'à la surface des travées du réticulum se montrent des tronçons de fibres coupées transversalement ou obliquement. De ce fait, il résulte que les fibres cardiaques s'anastomosent dans toutes les directions.

Après avoir acquis ces premières notions sur la disposition des fibres musculaires du cœur, il faut en étudier les détails de structure.



Fig. 200. — Cellules musculaires du ventricule de la grenouille, isolées après l'action de la potasse à 40 pour 100. — *n*, noyau; *a*, masse de protoplasma qui entoure le noyau; *c*, substance striée.

Chez tous les vertébrés, les fibres cardiaques sont formées de cellules soudées les unes aux autres. Examinons ces cellules d'abord chez la grenouille. Le cœur de cet animal est placé tout entier dans deux ou trois centimètres cubes d'une solution de potasse à 40 pour 100. Un quart d'heure après environ, on en détache un fragment que l'on agite dans une goutte de la solution de potasse. On recouvre d'une lamelle. Il y a dans la préparation un grand nombre de cellules myocardiques isolées.

Ces cellules sont fusiformes. Elles sont constituées par une substance striée en long et en travers et possèdent à leur centre un noyau ovoïde. Elles ont la forme des cellules musculaires lisses et ne diffèrent de certaines d'entre elles que par la striation transversale de leur substance. L'observation des cellules du cœur de la grenouille à l'aide de la potasse a été faite il y a longtemps déjà par Weismann[1]; elle a servi de point de départ aux diverses recherches qui nous ont fait connaître la structure des fibres cardiaques.

En traitant par la potasse à 40 pour 100 des fragments du cœur des mammifères, on isole aussi des cellules. Ces cellules sont plus grandes que celles du cœur de la grenouille et leur forme est différente. Elles sont cylindriques. Leurs deux bases sont irrégulières, échancrées et sont des surfaces de soudure, ainsi qu'on peut facilement le reconnaître quand ces cellules ne sont pas encore entièrement séparées. A l'aide de certaines méthodes, on peut observer les lignes de soudure des cellules qui composent les travées du myocarde. Parmi ces méthodes, celle

1. *Weismann*, Ueber die Muskulatur der Herzens beim Menschen und der Thierreihe, *Arch. Reichert et du Bois-Reymond*, 1861, p. 41.

qui donne les résultats les plus démonstratifs est l'imprégnation d'argent (Eberth[1]).

Voici comment il faut procéder : Un fragment de la face interne des ventricules encore recouvert de l'endocarde est plongé dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 et y est maintenu pendant trois quarts d'heure ou une heure, puis porté dans l'eau distillée. En arrachant ensuite l'endocarde au moyen d'une pince, on enlève avec lui des groupes de fibres musculaires du cœur qui lui sont adhérents. Il est alors placé sur une lame de verre de manière à montrer sa face profonde et monté en préparation dans la glycérine. Les faisceaux primitifs y apparaissent décomposés en segments à peu près d'égale étendue par des lignes noires transversales ou légèrement obliques et disposées en escalier. Ces segments correspondent exactement à ceux que l'on isole au moyen de la potasse. Du reste, Eberth a soumis à l'action de la potasse des fragments de muscle d'abord imprégnés d'argent et a vu la séparation se produire au niveau des lignes imprégnées.

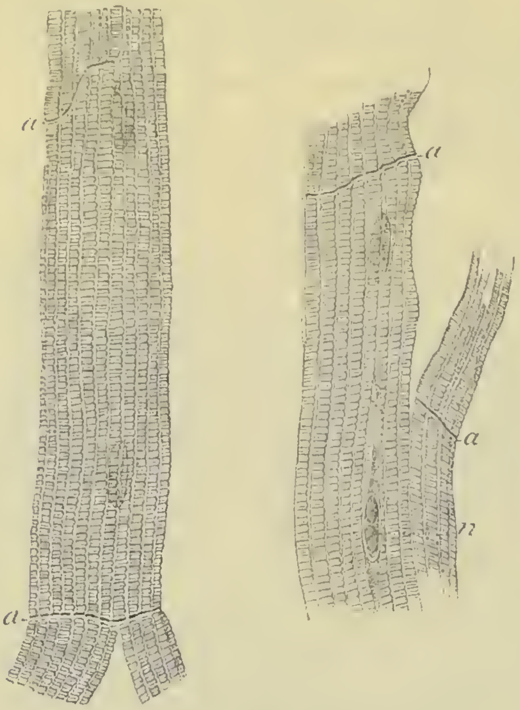


Fig. 201. — Fibres musculaires du ventricule gauche du chien, dissociées après macération dans l'acide chromique dilué, colorées au picrocarminate et conservées dans la glycérine additionnée d'acide formique. — *a*, ciment intercellulaire; *n*, noyau. — 600 diam.

Il n'est pas nécessaire d'avoir recours à l'imprégnation d'argent pour voir les lignes de séparation des cellules musculaires du cœur. On peut les observer nettement en opérant de la manière suivante : Une coupe mince faite au rasoir suivant la direction des fibres est placée pendant 24 heures dans quelques centimètres cubes d'une solution d'acide chromique à 1 ou 2 pour 10 000. Lavée ensuite à l'eau distillée, elle est placée pendant 24 heures dans du picrocarminate; lavée de nouveau, elle est dissociée ensuite sur la lame de verre et traitée par la glycérine additionnée d'acide formique. Dans ces préparations, les lignes intercellulaires s'accusent par une forte réfringence, un double contour et la disposition en escalier dont nous avons parlé. Les stries longitudinales et transversales sont nettement marquées: les noyaux occupent le centre des faisceaux, ils sont entourés d'une masse granuleuse qui se prolonge au delà de leurs extrémités suivant l'axe des faisceaux. A un grossissement de 400 à 600 diamètres, les bords des faisceaux montrent un feston régulier dont les saillies correspondent aux disques épais et les intervalles aux disques minces.

A l'aide de la méthode suivante, on peut reconnaître que la substance

1. *Eberth*, Die Elemente der quergest. Muskeln, *Arch. de Virchow*, 1866, t. 37, p. 100.

striée a, dans le myocarde, la même constitution que dans les faisceaux primitifs des muscles de la vie animale : un petit fragment du cœur est placé dans de l'alcool au tiers, dissocié avec les aiguilles en utilisant la demi-dessiccation et coloré à l'hématoxyline, le tout en suivant exactement le procédé qui a été indiqué page 377. On obtient ainsi des cylindres primitifs ou des fibrilles bien tendues dans lesquels on peut reconnaître le disque épais, le disque mince et les espaces clairs. Lorsque la tension est complète, le disque épais paraît composé lui-même de trois segments, un central et deux terminaux.

Les cylindres primitifs du muscle cardiaque présentent un arrangement tout spécial, qui s'apprécie bien sur les coupes du tissu desséché. Ces coupes doivent être faites perpendiculairement à la direction des fibres et aussi minces que possible. Elles sont placées dans l'eau, puis colorées au picrocarminate et finalement traitées par la glycérine additionnée d'acide formique. A un grossissement de 150 à 400 diamètres, on y distingue les faisceaux musculaires coupés en travers, dans l'intérieur desquels se montre un noyau, si ce dernier est compris dans la coupe.

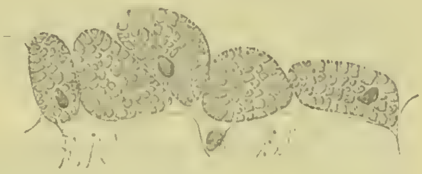


Fig. 202. — Coupe transversale des faisceaux musculaires du ventricule du veau, faite après dessiccation. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine additionnée d'acide formique. — 550 diam.

Ce noyau est entouré d'une substance moins réfringente que lui. Cette substance envoie des prolongements ou plutôt des cloisons rayonnées qui partagent la surface de la coupe du faisceau en un certain nombre de départements, divisés eux-mêmes en champs plus petits par des cloisons secondaires. Quand l'objectif est au delà du point, ces cloisons sont obscures et les champs limités par elles sont brillants. En rapprochant au contraire l'objectif de manière qu'il soit en deçà du point, les cloisons deviennent brillantes et les champs obscurs. Ces champs correspondent évidemment à la section transversale des cylindres primitifs (voy. fig. 202).

On ne peut voir ni dans les coupes transversales, ni dans les diverses préparations que nous avons indiquées, aucune trace de sarcolemme ; dès lors il est probable que les cylindres primitifs sont à nu à la surface du faisceau, ou qu'ils y sont recouverts par une mince couche de cette substance qui entoure le noyau et qui, après avoir envoyé des cloisons rayonnantes, arrive jusqu'à la surface.

Pour étudier la disposition des vaisseaux capillaires du muscle cardiaque, il est nécessaire de les injecter. Chez les gros mammifères, l'injection se fait directement par une des artères coronaires, mais chez les petits (lapin, cochon d'Inde, rat, etc.), après avoir lié l'artère pulmonaire et les différentes veines qui se rendent aux oreillettes, on injecte dans la crosse de l'aorte. D'habitude, les valvules sigmoïdes ne résistent pas, et la masse pénètre dans le ventricule gauche, ce qui n'empêche pas les artères coronaires de se remplir. Après l'injection, la pièce est mise dans le bichromate de potasse ou

d'ammoniaque, si les vaisseaux ont été injectés avec du bleu de Prusse; dans de l'alcool, si l'on a employé une masse au carmin.

Il est rare qu'un cœur soit régulièrement et complètement injecté. La plupart du temps, l'injection est inégale; mais il est toujours possible de trouver des régions dans lesquelles elle est suffisante pour l'étude. Ces fragments sont ceux que l'on choisit pour y pratiquer ensuite des coupes. Ces coupes faites suivant différentes directions nous montrent que les vaisseaux capillaires forment dans le cœur des mailles allongées dans le sens des faisceaux, comme dans les autres muscles; seulement les mailles de ce réseau, au lieu de ne contenir qu'un seul faisceau, comme il arrive pour les muscles volontaires, embrassent d'habitude plusieurs de ces faisceaux. Dans les injections, même les mieux réussies, les parties bien injectées présentent souvent de la diffusion. Cela tient à ce que les capillaires sanguins, au lieu d'être entourés de tissu conjonctif qui solidifie leurs parois, sont plongés au milieu d'espaces lymphatiques, dans lesquels la masse d'injection pénètre facilement.

A la surface des vaisseaux sanguins, il existe une couche de cellules plates qui peut être considérée comme une portion de l'endothélium des espaces lymphatiques.

Pour se rendre compte de la richesse du système lymphatique du cœur, il faut procéder de la façon suivante : S'étant procuré un cœur de mouton encore chaud, on enfonce dans la paroi du ventricule la canule d'une seringue hypodermique remplie de bleu de Prusse. Une légère pression suffit pour injecter les lymphatiques intramusculaires et le réseau péricardique. Ce réseau est très riche; les troncs lymphatiques qui en partent se rendent à des ganglions situés à la base du cœur.

On se convainc par cette expérience que l'origine des lymphatiques se trouve partout dans le muscle cardiaque, puisque, partout où pénètre la pointe de la seringue, il s'en injecte[1]. Tout l'espace laissé dans le cœur entre les faisceaux musculaires et les vaisseaux sanguins est lymphatique; en d'autres termes, le cœur des mammifères peut être considéré comme une éponge lymphatique, de même que le cœur de la grenouille est une éponge sanguine[2].

1. Schweigger-Seidel, qui a constaté (*das Herz*, Stricker's Handbuch., p. 185) avec quelle facilité, en injectant dans le myocarde, on remplit le réseau lymphatique sous-péricardique, supposait que l'origine de ces réseaux lymphatiques se trouvait dans des fentes spéciales situées entre les plans musculaires du myocarde et qu'il a désignées sous le nom des fentes de Henle (*Handb. der system. Anatomie*, t. III, 1re partie, p. 54 et suivantes). Ces fentes correspondent aux lames de tissu connectif qui séparent les uns des autres les faisceaux secondaires du cœur. L'origine des vaisseaux lymphatiques est beaucoup plus profonde. On doit la chercher dans les mailles du réseau des fibres musculaires du cœur et principalement dans les espaces compris entre les travées de ce réseau et les vaisseaux capillaires.

2. Le cœur de la grenouille ne possède ni vaisseaux sanguins ni vaisseaux lymphatiques. Son ventricule n'est pas constitué, comme ceux des mammifères, par une cavité nettement limitée et par une paroi compacte : la paroi et la cavité s'y confondent. Les travées musculaires s'y entre-croisent dans toutes les directions et le cloisonnent en tous sens. D'autre part, le sang circule dans tous les interstices entre les travées recou-

Cette circulation lymphatique si riche est nécessitée par le fonctionnement du muscle cardiaque. Ce muscle est en effet celui de toute l'économie qui fait le travail le plus considérable, parce qu'il le fait sans autre interruption que celle de la diastole. Il est indispensable que les produits de désassimilation, les déchets de ce travail, soient éliminés au plus vite ; c'est à cette nécessité que répond la richesse du système lymphatique du cœur.

ENDOCARDE

Nous avons à étudier, dans l'endocarde, l'endothélium qui le tapisse dans toute son étendue et la membrane, proprement dite, qui est composée de tissu conjonctif, de fibres élastiques et de cellules musculaires lisses.

On peut reconnaître l'existence d'un endothélium à la face interne de l'endocarde en la raclant avec la lame d'un scalpel et en examinant le produit du raclage dans l'eau, le sérum iodé, le picrocarminate, etc. Les cellules de l'endothélium, lorsqu'elles sont vues de face, apparaissent comme des plaques ; lorsqu'elles sont vues de profil, elles semblent fusiformes.

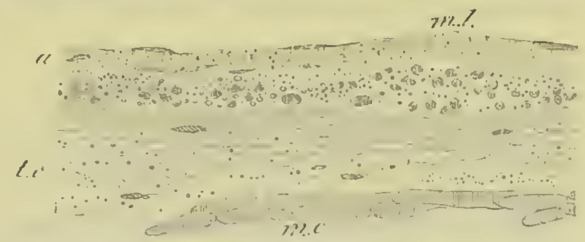


Fig. 203. — Endocarde du ventricule gauche de l'homme. — *a*, couche superficielle ; *tc*, tissu conjonctif fasciculé ; *mc*, fibres musculaires du ventricules ; *ml*, fibres musculaires lisses. — 150 d.

C'est à l'aide de l'imprégnation d'argent (voy. p. 95) que l'on est arrivé à se convaincre qu'il existe à la face interne du cœur un endothélium continu, composé de cellules polygonales plates contenant chacune un noyau et recouvrant exactement toutes les saillies et toutes les anfractuosités des cavités auriculaires et ventriculaires.



Fig. 204. — Endocarde de l'oreillette gauche de l'homme. — *a*, couche superficielle ; *tc*, tissu conjonctif fasciculé ; *mc*, fibres musculaires de l'oreillette ; *ml*, fibres musculaires lisses. — 150 d.

Pour étudier la couche sur laquelle repose l'endothélium, il convient d'y pratiquer des coupes dans différentes directions, sur des pièces desséchées (pour les détails de la méthode, voir plus loin : *Artères*) ou durcies à l'aide de l'un des procédés qui ont été indiqués dans les méthodes générales, par exemple par l'action successive de l'alcool.

vertes d'endothélium et arrive aussi bien tout près de la surface du cœur que dans le milieu de sa masse. Cette structure du cœur de la grenouille, signalée pour la première fois par Brücke (*Beiträge zur vergleichenden Anat. u. Physiol. des Gefæss Systems*. Mém. de l'Acad. des sciences de Vienne, 1852, t. III, p. 335), se voit très nettement quand on remplit cet organe d'une masse de gélatine colorée. Après que cette masse a été solidifiée par le refroidissement, des coupes, éclaircies par l'essence de girofle et montées dans le baume du Canada, montrent que la masse d'injection est répandue partout entre les faisceaux jusqu'à la surface du ventricule ; à la base seulement de ce dernier se trouve une cavité un peu plus grande et plus nette. On peut donc dire, à juste titre, que le cœur de la grenouille est une éponge sanguine.

de l'acide picrique, de la gomme et de l'alcool. On y reconnaît que l'endocarde n'a pas la même épaisseur et la même structure dans les différentes parties du cœur, bien qu'il soit partout composé d'éléments du tissu conjonctif et de fibres musculaires lisses. C'est ainsi que dans les ventricules il est plus épais que dans les oreillettes, et que dans le cœur gauche (oreillette et ventricule) les éléments musculaires y sont plus nombreux que dans le cœur droit.

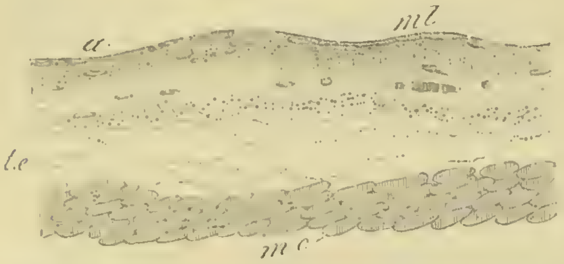


Fig. 205. — Endocarde du ventricule droit de l'homme. — *a*, couche superficielle; *tc*, tissu conjonctif; *mc*, fibres musculaires du ventricule; *ml*, fibres musculaires lisses. — 150 diam.

Au-dessous de l'endothélium, dans toutes les régions, il existe une couche serrée dans laquelle on voit des noyaux aplatis suivant la surface et des fibres élastiques fines. Il s'y trouve également des cellules musculaires lisses.



Fig. 206. — Endocarde de l'oreillette droite de l'homme. — *a*, couche superficielle; *tc*, tissu conjonctif; *mc*, fibres musculaires de l'oreillette. — 150 diam.

Immédiatement au-dessous il existe du tissu conjonctif, dans lequel rampent les nerfs, les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques et qui se poursuit sans ligne de démarcation tranchée avec le tissu conjonctif interstitiel du muscle cardiaque.

Valvules du cœur. — Les valvules du cœur de l'homme sont constituées par du tissu conjonctif disposé en lames ou en faisceaux. A ces faisceaux et à ces lames, sont ajoutées des fibres élastiques.

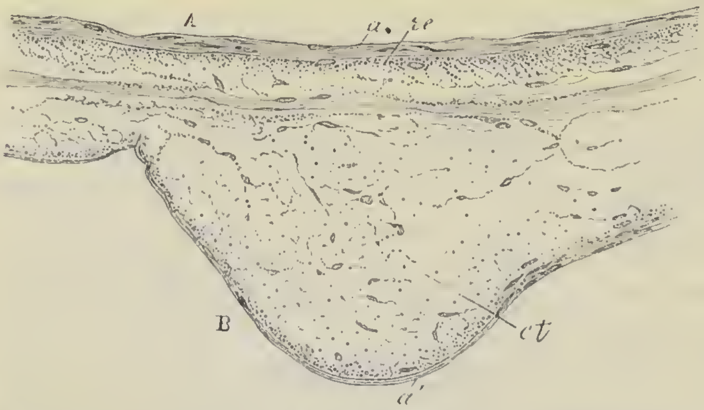


Fig. 207. — Coupe de la valvule tricuspide, faite perpendiculairement à l'axe de l'orifice auriculo-ventriculaire. — A, surface auriculaire; B, surface ventriculaire; *a*, couche connective lamelleuse de la surface auriculaire; *a'*, couche lamelleuse de la surface ventriculaire; *ct*, coupe transversale d'un cordage tendineux au niveau de son point d'insertion sur la valvule; *re*, tissu fibreux de la charpente de la valvule. — 100 diam.

Pour étudier les valvules du cœur, on y fait des coupes après dessiccation (voy. p. 75).

Les valvules mitrale et tricuspide fournissent des préparations en tous points comparables. Au niveau de la face auriculaire, il existe une couche épaisse de tissu conjonctif lamelleux contenant des noyaux aplatis qui, dans la coupe, paraissent allongés dans le sens de la surface. Cette couche est entremêlée de fibres élastiques fines, plus nombreuses et plus grosses vers sa face profonde et formant un réseau serré qui se perd peu à peu entre les faisceaux de tissu conjonctif

Ces faisceaux, qui sont revêtus de cellules plates (cellules connectives ordinaires), formen la charpente de la valvule et en constituent la partie moyenne. A la face ventriculaire, on remarque des saillies (*ct*, fig. 207) qui correspondent aux cordages tendineux. La structure de ces cordages est celle des tendons. Enfin, à la surface ventriculaire de la valvule, il existe une couche analogue à celle qui se trouve à sa surface auriculaire, seulement elle est plus mince.

Les valvules sigmoïdes, aortiques et pulmonaires nous montrent une disposition à peu près semblable, mais plus régulière, parce que ces valvules ne possèdent pas de cordages tendineux. Sur chacune de leurs faces, on observe une couche de tissu conjonctif lamelleux doublée d'une réseau élastique. Cette couche et le réseau élastique sous-jacent ont une épaisseur plus considérable dans les valvules aortiques que dans les valvules pulmonaires, et sur la face ventriculaire de la valvule que sur sa face artérielle. A la partie moyenne des valvules, se trouve une couche fibreuse qui constitue leur charpente.

PÉRICARDE

On peut s'assurer, à l'aide des imprégnations d'argent, que le péricarde, aussi bien sur sa face pariétale que sur sa face viscérale, est recouvert d'une seule couche de cellules endothéliales polygonales, semblables à celles du péritoine. Chez la grenouille, le feuillet viscéral possède un revêtement endothélial dont les cellules fort irrégulières ont de grands prolongements arrondis qui pénètrent dans des échancrures correspondantes des cellules voisines, de sorte que l'ensemble de toutes ces cellules après l'imprégnation d'argent rappelle les découpures des jeux de patience.

Le stroma de la membrane peut être étudié à l'aide des diverses méthodes qui ont été indiquées à propos des membranes séreuses et du tissu conjonctif en général.

CHAPITRE X

ARTÈRES

A partir de leurs origines ventriculaires et à mesure qu'elles se rapprochent des capillaires sanguins, les artères présentent une structure de plus en plus simple, de telle sorte que l'artère la plus élémentaire est celle qui se trouve immédiatement avant les capillaires, tandis que l'aorte possède au contraire la constitution la plus complexe. Dès lors, dans un exposé systématique de la structure des artères, il est logique de commencer par les artérioles, qui présentent la constitution la plus simple, et de remonter

jusqu'à l'aorte, en indiquant à mesure les modifications que subissent les tuniques artérielles. Nous suivrons ce mode d'exposition autant que nous le permettra le point de vue de la technique, auquel nous devons toujours nous placer dans cet ouvrage.

Les vaisseaux capillaires sanguins sont constitués par une simple membrane endothéliale disposée en forme de tube. Pour devenir une artère, le tube endothélial du capillaire se recouvre de cellules musculaires lisses à direction transversale. Ces cellules, disposées les unes à côté des autres sur une seule couche, forment ainsi un tube musculaire qui enveloppe le tube endothélial du capillaire. A la surface de ce manchon musculaire sont généralement disposés de petits faisceaux de tissu conjonctif entremêlés de fibres élastiques, ayant les uns et les autres une direction longitudinale. On peut donc considérer à l'artère trois tuniques, une interne de nature endothéliale, une seconde ou moyenne de nature musculaire et une externe ou adventice formée d'éléments conjonctifs.

Ces trois tuniques se retrouvent sur toutes les branches et sur le tronc de l'arbre artériel. Il est vrai qu'elles subissent des modifications importantes: mais leurs éléments essentiels s'y retrouvent toujours, par exemple l'endothélium dans la tunique interne et les fibres musculaires dans la tunique moyenne.

Les méthodes que l'on emploie pour étudier les artères varient suivant qu'elles sont assez petites pour être soumises tout entières à l'observation miscroscopique ou qu'elles ont des dimensions telles qu'il est impossible d'en étudier la structure sans y pratiquer des coupes. Les premières sont souvent désignées sous le nom d'artérioles; nous nous en occuperons tout d'abord.

Artérioles. — Les artérioles, pour être examinées au microscope, doivent être complètement isolées, à moins qu'elles ne soient situées dans des parties minces et transparentes, qui permettent de les distinguer nettement lorsqu'elles sont encore en place.

Il n'est pas possible d'isoler les artérioles de la trame de tous les organes qui en contiennent, soit parce que cette trame est trop résistante, soit parce qu'il y a entre celle-ci et le vaisseau une union trop intime. Parmi tous les organes, ceux du système nerveux (cerveau, moelle épinière, gros troncs nerveux périphériques) sont ceux qui conviennent le mieux lorsque l'on se propose d'étudier les artérioles complètement isolées. Du cerveau, par exemple, même quand il est complètement frais, il est facile d'extraire des artérioles en les arrachant à l'aide d'une pince. Pour les examiner, on les étale sur une lame de verre dans l'eau ou dans du sérum iodé; pour les colorer, on se servira avec avantage du picrocarminate, et, en substituant ensuite la glycérine à la matière colorante, on aura des préparations persistantes.

On obtient facilement des artérioles en dissociant au moyen des aiguilles les faisceaux nerveux de nerfs frais ou qui ont été soumis à l'action de l'acide chromique, du bichromate de potasse ou d'ammoniaque, de l'acide osmique, etc. (Voyez l'article : *Nerfs périphériques*.)

Pour étudier les artérioles dans le tissu conjonctif sous-cutané ou profond, il convient d'employer les injections interstitielles, telles qu'elles ont été indiquées à propos du tissu conjonctif (voy. p. 271), faites avec du sérum iodé, du picrocarminate, de l'alcool au tiers, etc. Des fragments de la boule d'œdème, enlevés avec des ciseaux courbes et recouverts de la lamelle, montrent, au milieu et à côté des faisceaux du tissu conjonctif et des fibres élastiques écartés par l'interposition du liquide, des artérioles, des vaisseaux capillaires et des veinules en nombre plus ou moins considérable suivant les régions qui auront été choisies par l'expérimentateur. Ce mode de préparation convient d'une manière spéciale pour l'étude des vaisseaux sanguins du tissu conjonctif des embryons déjà arrivés à une période avancée du développement.

Il est un procédé simple et qui comme le précédent a l'avantage de laisser le vaisseau avec tous ses rapports et d'éviter, par conséquent, les torsions qu'éprouve d'une manière presque inévitable un tube souple, soumis aux actions mécaniques nécessaires pour obtenir la dissociation. Il consiste à choisir des membranes vasculaires, telles que le mésentère des petits animaux (grenouille, souris, rat, cochon d'Inde, lapin), le grand épiploon du lapin, la membrane interdigitale, la langue et le poumon de la grenouille, la membrane hyaloïde du même animal, l'expansion membraneuse de la queue des têtards, etc. Il importe que la membrane dans laquelle sont comprises les artérioles soit régulièrement tendue, ce que l'on obtient (si l'étude doit être faite sur les parties fraîches dans leur liquide naturel, par exemple pour le mésentère et le grand épiploon dans la sérosité péritonéale) en la recouvrant d'une lamelle et en la tirant au delà des bords de celle-ci pour la maintenir avec de la paraffine.

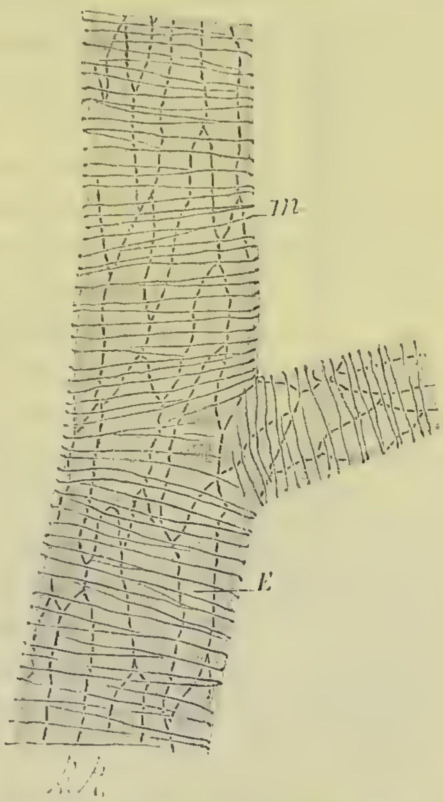


Fig. 208. — Artérioles de l'intestin du lapin, imprégnées d'argent par injection. — *E*, cellules endothéliales de la face interne; *m*, fibres musculaires. — 200 diam.

Lorsque les éléments de la membrane, ceux des artérioles y compris, ont été fixés par un séjour de quelques heures dans le liquide de Müller, le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 ou l'alcool au tiers, on pourra, après les avoir colorés soit par le picrocarminate, soit par l'hématoxyline, employer pour les tendre le procédé de la demi-dessiccation (voy. p. 61).

L'endothélium et la tunique musculaire des artérioles se présentent avec une netteté admirable, lorsqu'on les a imprégnés d'argent. On obtient cette imprégnation en injectant dans les vaisseaux une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Cette méthode montre mieux que toute autre la forme des cel-

lules endothéliales. Ces cellules sont minces, allongées suivant l'axe du vaisseau et se correspondent de telle façon que l'extrémité de l'une d'elles vient se placer dans l'angle laissé par deux de ses voisines (E, fig. 208). Dans les préparations colorées, on peut reconnaître leurs noyaux ovalaires. Ils sont aplatis, et ont leur grand diamètre parallèle à l'axe du vaisseau.

Les préparations obtenues par injection de nitrate d'argent permettent de bien voir la couche musculaire des artérioles; mais il faut l'étudier aussi dans des artères comprises dans les membranes que l'on examine dans leur milieu naturel, la sérosité péritonéale, par exemple, pour le grand épiploon ou le mésentère. Les fibres musculaires s'accusent très nettement à cause de leur réfringence, surtout lorsqu'elles sont encore vivantes; dans ces conditions leurs noyaux ne sont pas visibles. Pour qu'ils deviennent apparents, il suffit d'ajouter de l'eau simple ou additionnée d'une faible quantité d'acide acétique ou d'acide formique. Ils se montrent alors dans l'intérieur des cellules musculaires, sur le bord du vaisseau, sous la forme de petits cercles, lorsque le ventre de la cellule est au niveau de ce bord.

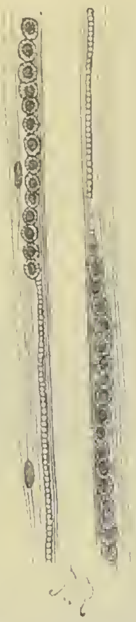


Fig. 209. — Artériole du grand épiploon du lapin adulte. Liquide de Müller. Coloration au picrocarminate, conservation dans la glycérine. L'objectif étant mis au point sur le bord du vaisseau, les cellules musculaires sont vues sur leur coupe optique. — 250 diam.

On les voit également bien lorsque la membrane a été traitée par l'alcool au tiers et colorée par le picrocarminate. Ils apparaissent alors sur le bord des plus petites artères, comme des cercles rouges dont le groupement est tout spécial. Ils y forment des rangées disposées alternativement sur le bord gauche et sur le bord droit (si l'on considère une artériole placée dans le champ du microscope d'avant en arrière), de telle sorte qu'une rangée commence à droite au niveau où finit une rangée à gauche (fig. 209). Lorsqu'en manœuvrant la vis micrométrique, on cherche à se rendre compte de la forme et des rapports de ces noyaux, on ne tarde pas à reconnaître qu'ils sont disposés en hélice autour de l'artère, ainsi que H. Müller (d'après Kölliker, 2e édit. franç., p. 761) l'avait déjà constaté.

Il convient d'ajouter que cette disposition, que l'on peut reconnaître à l'aide de différentes méthodes, n'affecte pas une régularité parfaite, et que, pour des artères de même calibre, les tours de la spire, mesurés par la longueur des rangées de noyaux, peuvent avoir des hauteurs très différentes.

Si, après qu'elle a séjourné vingt-quatre heures dans le bichromate d'ammoniaque ou le liquide de Müller, la membrane est colorée par la purpurine ou le picrocarminate, on reconnaîtra facilement autour des noyaux la substance musculaire disposée en petits champs arrondis ou polygonaux dont il a déjà été question (voy. p. 409).

Dans les artérioles examinées suivant leur longueur, après l'action de solutions faibles d'acide chlorhydrique, d'acide acétique ou d'acide formique, on distingue, au-dessous de la tunique musculaire, des stries longitudinales semblables à celles que donnerait une membrane plissée. Ces stries correspondent à une couche spéciale située entre l'endothélium et la tunique musculaire et qui est connue sous le nom de lame élastique interne. Pour se convaincre de l'existence de cette lame, il faut avoir recours à l'examen de coupes transversales. Il est clair que ces coupes ne peuvent pas être faites sur une artériole isolée; mais comme il se rencontre des artérioles d'une direction déterminée dans un grand nombre d'organes, il sera facile d'y pratiquer des sections perpendiculaires à cette direction. C'est ainsi que dans des coupes transversales de nerfs et de muscles, par exemple, on observe des artérioles coupées en travers, montrant, au-dessous des noyaux de leurs cellules endothéliales, un ruban festonné mince et réfringent. Ce ruban, qui correspond à la lame élastique interne, sépare l'endothélium de la tunique musculaire. En dehors, se trouve le tissu connectif, entremêlé de fibres élastiques, qui appartient à la tunique externe.

La membrane élastique interne, comme toutes les parties formées de substance élastique, n'a qu'une élasticité limitée. Lorsque la tunique musculaire se rétracte, la limite inférieure de son élasticité est dépassée, et pour tenir dans l'espace qui lui est réservé, elle doit se replier sur elle-même. C'est pour cela que, dans les coupes transversales, elle apparaît comme un feston, tandis que, dans les petites artères vues entières suivant leur longueur, les plis qu'elle a pris sous l'influence de la rétraction de la tunique musculaire donnent lieu à l'apparence de stries longitudinales.

Grosses et moyennes artères. — Pour étudier la structure des artères d'un calibre notable (aorte, carotide, axillaire, iliaque, fémorale, humérale, radiale, cubitale, tibiale, pédieuse, artères de la base du cerveau, etc.), il est nécessaire d'y pratiquer des coupes dans les directions déterminées. Ces coupes peuvent être faites à l'aide des différents procédés de durcissement indiqués aux méthodes générales; mais celui de la dessiccation est si souvent mis en usage dans les recherches sur les artères, qu'on pourrait le désigner sous le nom de procédé classique. En voici les détails :

L'artère est fendue suivant sa longueur, étendue régulièrement sur une lame de liège et fixée par ses bords avec de nombreuses épingles, sa face interne étant exposée à l'air. Elle est alors mise à sécher dans un endroit chaud aéré, par exemple sur le couvercle d'une étuve à incubation, de telle sorte que la dessiccation puisse s'effectuer en quelques heures. Dans cette première partie de l'opération, il faut remplir deux conditions importantes :

1° La direction du vaisseau doit être notée exactement, afin d'être assuré de pouvoir y faire, après la dessiccation, des coupes longitudinales ou transversales.

2° Comme la pièce se rétracte en séchant, il se produit entre deux épingles consécutives un feston creux d'autant plus accusé que la distance entre les épingles est plus grande. Au niveau de ces festons, l'artère étant donc moins

tendue qu'au niveau des épingles, la disposition relative des éléments n'y est pas la même. Pour éviter cet inconvénient, il importe de rapprocher autant que possible les épingles, et, de plus, il faut choisir, pour faire les coupes, des parties assez éloignées des bords.

Le tissu des artères durci par la dessiccation présente une grande consistance; aussi, pour y faire des coupes, il est nécessaire d'employer un rasoir à tranchant résistant; il convient même d'avoir un rasoir destiné spécialement à cet usage que l'on repassera sur la pierre en lui donnant une inclinaison de 40° environ.

Les coupes peuvent être exécutées à la main sur la pièce tenue librement. Mais, en opérant dans ces conditions, il est difficile de les réussir; et si elles sont suffisamment minces, elles n'ont pas toujours une longueur suffisante.

Pour obtenir des coupes assez minces et assez étendues, voici comment il faut procéder : on choisit d'abord un bouchon de liège fin; sur une de ses bases et suivant son axe, on pratique avec la scie une fente ayant deux ou trois centimètres de profondeur. L'artère est introduite dans la fente et y est disposée de manière que sa direction longitudinale ou sa direction transversale corresponde exactement à la surface du liège. Elle est maintenue et fixée dans cette position par les doigts de la main gauche qui, pressant le bouchon, doivent appliquer fortement l'une sur l'autre les deux lèvres de la fente. Les choses étant disposées ainsi, la coupe se fait d'arrière en avant; comme le liège oppose à la lame tranchante à peu près la même résistance que l'artère desséchée, elle passe sans secousse de l'un à l'autre. La surface étant ainsi affranchie, pour obtenir une tranche mince de l'artère on appuie fortement le rasoir sur le liège de manière à le déprimer légèrement. La petite épaisseur de l'artère qui fait saillie sera coupée par le rasoir. On peut faire de cette façon, à la suite l'une de l'autre, deux ou trois coupes; puis, laissant reprendre au liège son volume primitif, on en affranchit avec le rasoir une nouvelle surface pour remettre le tout de niveau.

Les coupes réussissent mieux lorsque la dessiccation n'est pas trop complète, parce que les tissus sont moins cassants. Si la pièce est desséchée depuis longtemps, il est bon de souffler auparavant sur la surface; la vapeur de l'haleine ramollit une couche superficielle très mince et la rend plus facile à couper.

Les coupes sont reçues sur une feuille de papier et portées ensuite dans l'eau qui les gonfle et leur donne, en même temps qu'une plus grande étendue, une plus grande épaisseur; c'est pour cela qu'il importe de les faire extrêmement minces. Puis elles sont colorées par le carmin ou mieux par le picrocarminate et replongées dans l'eau pour les laver. Choisissons la plus mince et la plus longue, portons-la sur une lame de verre, enlevons l'excès du liquide avec des languettes de papier à filtrer et, au moment où la dessiccation commence à se produire, étendons-la en saisissant ses deux extrémités avec les doigts et appuyons de manière à les fixer. Après quelques instants, la dessiccation est suffisante pour que, en agissant avec une certaine rapidité, on puisse déposer au centre de la coupe une goutte d'eau qui n'atteindra pas

ses extrémités et ajouter une lamelle sans modifier l'extension. Enlevant alors l'excès d'eau, fixons les extrémités de la coupe qui doivent dépasser la lamelle avec de la paraffine. Pour obtenir une préparation persistante, il suffira ensuite de substituer à l'eau de la glycérine additionnée d'acide formique.

Dans ces préparations, les fibres élastiques sont incolores, les noyaux connectifs et musculaires sont colorés en rouge, et au début les fibres connectives sont légèrement teintées de rose; mais cette coloration s'efface peu à peu pour disparaître complètement au bout de quelques jours.

Pour rendre bien distinctes les fibres élastiques et les réseaux qu'elles forment dans les artères, il est bon de les colorer avec l'acide picrique. Pour atteindre ce but, on peut procéder de deux façons : ou bien on emploie comme liquide additionnel un mélange de glycérine 50, solution saturée d'acide picrique 50, acide formique 1; ou bien, lorsque la coupe est régulièrement étalée par le procédé de la demi-dessiccation, avant de placer la lamelle, on ajoute, au lieu d'eau, du picrocarminate, et pour finir la préparation on suit le procédé indiqué.

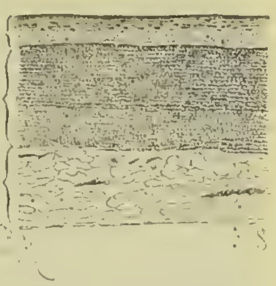


Fig. 210. — Coupe longitudinale de l'aorte thoracique de l'homme, faite après dessiccation. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine additionnée d'acide formique. — A, tunique interne; B, tunique moyenne; C, tunique externe. — 20 diamètres.

Les coupes longitudinales sont les plus instructives, parce que les fibres musculaires qui sont sectionnées transversalement y apparaissent nettement et ne peuvent se confondre avec les éléments cellulaires du tissu conjonctif. Les coupes transversales sont utiles pour compléter les notions que l'on a acquises par l'observation des longitudinales et pour mieux observer certains détails de structure.

En comparant entre elles des coupes longitudinales de différentes artères, on arrive à se convaincre d'abord qu'il entre dans toutes les mêmes éléments, et qu'au point de vue du groupement de ces éléments il y a deux types principaux d'artères : le type élastique ou aortique et le type musculaire. Au premier appartiennent l'aorte, les carotides et le tronc de l'artère pulmonaire : à l'autre, les artères des membres jusqu'aux capillaires.

Artères du type élastique. — Le caractère distinctif du type élastique est la décomposition de la tunique moyenne en couches successives ou concentriques séparées les unes des autres par des lames élastiques, parallèles à l'axe du vaisseau.

Dans une coupe longitudinale de l'aorte de l'homme adulte, examinée à un faible grossissement, les trois tuniques sont nettement indiquées, surtout lorsque les éléments élastiques sont colorés en jaune par l'acide picrique. La tunique moyenne se limite en dedans par la lame élastique interne; en dehors de celle-ci s'étagent des lames successives qui, sur leur tranche, présentent des caractères semblables à ceux de la lame élastique interne; cette dernière peut donc être considérée comme la plus interne de ces lames. La limite externe de la tunique moyenne est moins nettement

accusée; en approchant de cette limite, les lames élastiques sont moins régulières, moins épaisses, et de la dernière d'entre elles se détachent des fibres élastiques qui vont se perdre dans la tunique externe où elles forment un réseau à mailles longitudinales. Ces mailles sont comblées par des faisceaux connectifs ordinaires.

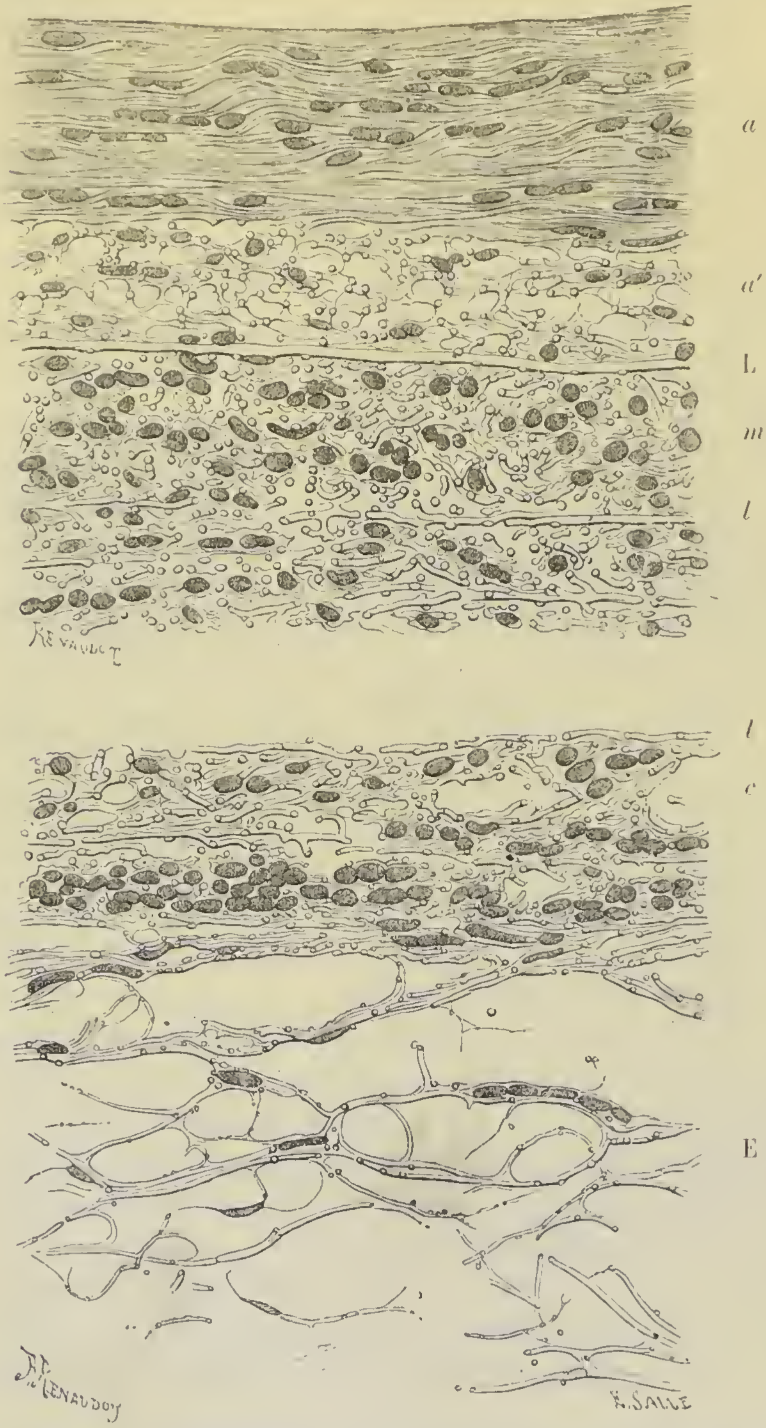


Fig. 211. — Coupe longitudinale de l'aorte thoracique de l'homme faite après dessiccation. Coloration au picrocarminate et conservation dans la glycérine additionnée d'acide formique. La partie centrale de la tunique moyenne n'a pas été dessinée. — *a*. couche interne de la tunique interne; *a'*, couche externe de la tunique interne: L. lame élastique interne; *m*, fibres musculaires coupées en travers; *l*, lames élastiques; *c*, faisceaux du tissu conjonctif coupés en travers: E, tunique externe. — 400 diamètres.

Dans des préparations fraîchement colorées par le carmin, la tunique interne présente une coloration rose. Lorsque les préparations montées dans la glycérine acidifiée datent de quelques jours, les faisceaux connectifs sont décolorés, et leur limite n'est plus marquée que par le réseau élastique et par les cellules connectives dont les noyaux sont colorés en rouge. La tunique interne au contraire, au moins dans ses parties superficielles, conserve, dans les mêmes préparations, une légère coloration rouge, mélangée d'un peu de jaune. On y distingue aussi des noyaux colorés en rouge.

Telles sont les notions que l'on peut acquérir en examinant à un faible grossissement une coupe longitudinale de l'aorte; il est nécessaire de les

compléter par l'étude de la même préparation à un grossissement plus fort (300 à 500 diamètres) et par l'examen de préparations faites par d'autres procédés.

A la surface de la tunique interne, on ne trouve généralement pas les noyaux de l'endothélium, si la préparation provient de l'aorte de l'homme, prise vingt-quatre heures après la mort; mais, dans des préparations semblables de l'aorte d'un mammifère (chien, veau, lapin, rat, etc.), on distingue, tout à fait à la surface de la tunique interne, des noyaux ovalaires, faisant une légère saillie et correspondant évidemment aux cellules endothéliales.

Celles-ci, du reste, peuvent être observées sur l'aorte fraîche de ces différents animaux à l'aide de l'imprégnation d'argent. Chez les plus petits d'entre eux (lapin, rat, etc.), l'artère dont la surface interne est imprégnée peut être examinée entière et à plat, après qu'on a éclairci les tissus par la glycérine, ou mieux encore par l'essence de girofle. Chez des animaux où les tuniques artérielles ont une plus grande épaisseur, il faut, après avoir imprégné, détacher une couche mince de la surface avec un rasoir. Dans ces préparations, on constate que l'endothélium est constitué par des cellules plates disposées sur une seule couche et présente le même agencement que dans les artérioles; cependant les cellules y sont plus larges (voy. fig. 208).

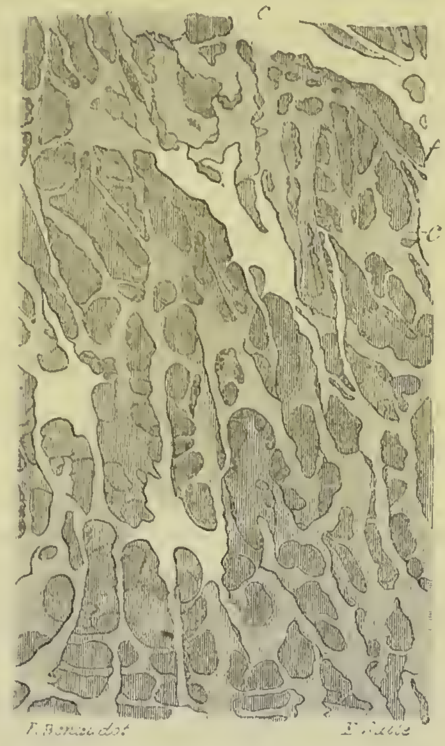


Fig. 212. — Tunique interne de l'aorte de l'homme, imprégnée par le nitrate d'argent. — *c*, cellules; *f*, substance fibrillaire intercellulaire. 400 diamètres.

Quant à la portion sous-jacente de la tunique interne, portion connective, elle présente chez l'homme deux couches distinctes à peu près d'égale épaisseur.

La couche interne (fig. 211 *a*,) est finement striée; les stries qu'elle présente proviennent d'un réseau élastique extrêmement fin dont la direction générale est longitudinale et d'une substance vaguement fibrillaire colorée par le carmin. Dans cette substance se trouvent des noyaux aplatis comme ceux de la plupart des cellules connectives.

Ces noyaux appartiennent à des cellules. Depuis longtemps déjà, Virchow[1], en examinant les pellicules qui recouvrent les foyers athéromateux de l'aorte, avait reconnu autour d'eux des îlots de granulations graisseuses figurant un corps cellulaire. Langhans[2], en traitant la tunique interne de l'aorte par

1. *Virchow*. Path. cellul., 1re édition française, p. 285.

2. *Langhans*. Beitraege zur normalen und pathologischen Anatomie der Arterien. *Virch Arch.*, 1866, vol. 36, p. 193 et suiv.

le nitrate d'argent, a vu se dessiner un réseau blanc sur fond brun, comparable à celui que le même mode de préparation produit dans la cornée; il en a conclu que la tunique interne des artères contient un réseau de cellules creuses constituant un système plasmatique.

On peut réussir l'imprégnation d'argent de la tunique interne de l'aorte de l'homme recueillie vingt-quatre heures après la mort. Voici comment il faut procéder : un segment de l'artère est plongé dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 et il y est maintenu pendant plus d'une heure; on le place ensuite dans l'eau distillée pendant quelques heures, puis, à l'aide d'une pince, on arrache des lambeaux plus ou moins étendus de la tunique interne. Ces lambeaux sont montés en préparation dans la glycérine et exposés à la lumière. Lorsqu'ils ont pris sous son influence une teinte brune, on y reconnaît, à l'aide du microscope, l'existence de figures ramifiées, ménagées par l'imprégnation. Ces figures anastomosées entre elles sont placées dans divers plans et forment un système très compliqué (fig. 212).

Chez le chien, le lapin et d'autres mammifères, dans presque tous les points de la tunique interne de l'aorte, l'arrangement général de ces figures est en tourbillon.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on peut affirmer que l'interprétation donnée par Langhans est en partie exacte, en ce sens que les espaces blancs ramifiés, ménagés par l'argent, correspondent bien à des cellules, comme le dit cet auteur; mais ces espaces ne sauraient être considérés comme un système plasmatique intra-cellulaire.

La partie profonde de la tunique interne (fig. 211, *a*) semble différer de la couche superficielle de la même tunique; le réseau de fibres élastiques fines à direction longitudinale de cette dernière, forme entre les deux couches un lacis serré, et les fibres qui s'en dégagent du côté de la couche profonde prennent une direction transversale pour se perdre entre des faisceaux connectifs dont la direction est également transversale.

Ces faisceaux se colorent moins par le carmin que la couche striée superficielle, et entre eux on aperçoit les noyaux des cellules connectives. Les fibres du réseau élastique de cette couche profonde viennent une à une s'insérer à la lame élastique interne qui peut être considérée, ainsi que nous l'avons déjà dit, comme la première lame élastique de l'aorte.

Passons maintenant à l'étude détaillée de la tunique moyenne. Les lames élastiques y apparaissent comme des rubans réfringents, incolores ou colorés en jaune, s'il y a un excès d'acide picrique dans la préparation. Ils présentent de distance en distance de petites solutions de continuité, et leurs bords sont irréguliers. Il s'en dégage des fibres élastiques qui gagnent directement les lames élastiques voisines ou se perdent dans un réseau compris entre deux lames. Il se produit ainsi une charpente élastique très compliquée dont les pièces laissent entre elles des intervalles comblés par des cellules musculaires et des faisceaux de tissu connectif.

Dans les coupes longitudinales, les cellules musculaires de l'artère sont

sectionnées en travers; elles apparaissent comme des cercles réfringents et teintés, sans noyaux, si la section les a prises vers une de leurs extrémités, montrant leur noyau, si la section est tombée vers leur milieu. Quant aux faisceaux connectifs, leur nombre varie suivant les couches de la tunique moyenne que l'on considère; plus abondants dans les périphériques, plus rares et plus petits dans les centrales, ils se montrent sous la forme de petites masses, colorées en rose dans les préparations fraîchement faites, et incolores dans les anciennes.

Pour acquérir des notions plus complètes sur les lames élastiques, les cellules musculaires et les faisceaux conjonctifs de la tunique moyenne des artères, il faut étudier ces différentes parties élémentaires complètement isolées par dissociation.

Il est difficile d'isoler les lames élastiques de l'aorte fraîche de l'homme et des mammifères adultes; mais il suffit de laisser



Fig. 215. — Lame élastique de la tunique moyenne de l'aorte de l'homme, séparée après macération dans une solution d'acide tartrique. — *m*, membrane élastique; *E*, fibres élastiques; *T*, trous de la membrane. — 350 diamètres.

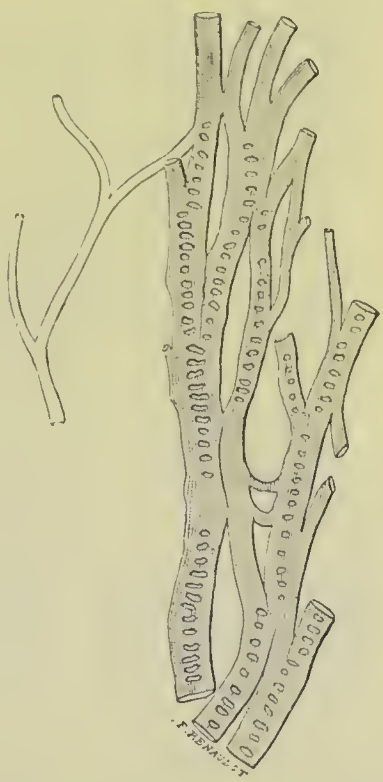


Fig. 214. — Réseau élastique de la tunique moyenne de l'aorte du veau. Dissociation après macération dans l'alcool au tiers. Coloration en jaune par le picrocarminate. — 700 diamètres.

macérer le vaisseau pendant quelques heures dans une solution d'acide tartrique à 1 pour 100 pour qu'il soit facile, en se servant des aiguilles, de séparer complètement quelques-unes de ces lames. Elles apparaissent alors sous la forme de membranes transparentes, dont souvent les bords sont repliés et dont la surface présente à considérer des trous ou pertes de substance arrondis et des fibres élastiques. Ces fibres sont comme implantées dans la membrane par une de leurs extrémités, ou bien elles y sont soudées de manière à simuler un bas-relief. Souvent les trous sont bordés par des fibres élastiques qui les contournent et doublent l'épaisseur de la lame à leur niveau (fig. 215, T). Si nous comparons maintenant les lames isolées à celles que l'on observe dans les coupes longitudinales, nous comprendrons pourquoi

on voit sur les bords de leur surface de coupe de légères saillies. Ces saillies correspondent aux fibres élastiques en bas-relief. Quant aux interruptions que présentent ces lames observées dans les mêmes conditions, elles sont en rapport avec les trous ou pertes de substance. Enfin les fibres élastiques, qui se confondent avec la membrane par une seule de leurs extrémités, nous les retrouvons dans les coupes longitudinales, sous forme de travées élastiques unissant les différentes lames.

Chez le veau, les lames élastiques ne sont pas encore constituées; à leur place il existe un réseau de grosses fibres élastiques qui s'isole facilement à l'aide des aiguilles, soit à l'état frais, soit après l'action des réactifs dissociateurs. Ce réseau élastique montre une disposition intéressante qui a déjà été indiquée par les histologistes anciens (Henle, Kölliker, etc.). Les grosses fibres de ce réseau laissent voir des pertes de substance irrégulières à direction transversale, qui leur donnent une apparence striée (fig. 214).



Fig. 215. — Cellules musculaires de la tunique moyenne de l'aorte du chien, isolées après macération dans l'alcool au tiers. Coloration au picrocarminate. — A. cellule à un noyau; B. cellule à deux noyaux. — 400 diamètres.

Les cellules musculaires de l'aorte de l'homme et des différents mammifères se séparent avec une grande facilité. Pour les obtenir isolées, on peut suivre n'importe laquelle des méthodes générales de dissociation : la macération dans l'acide chromique et les bichromates en solutions diluées, dans le sérum iodé, l'alcool au tiers, etc. Ce dernier réactif donne certainement les meilleurs résultats, parce qu'il n'entrave nullement la coloration des éléments par le carmin.

Un petit fragment de l'aorte est plongé dans quelques centimètres cubes d'alcool au tiers. Le lendemain, on en coupe avec des ciseaux de petits lambeaux dont on pratique la dissociation sur la lame de verre dans un peu du liquide conservateur. Pendant la dissociation, un grand nombre de cellules musculaires se séparent et flottent dans ce liquide. Elles peuvent être examinées telles quelles ou après l'addition du picrocarminate, de la glycérine, etc.

Elles ont une forme très irrégulière, paraissent striées suivant leur longueur et sont munies de pointes ou de prolongements frangés. Elles possèdent un et quelquefois deux noyaux en forme de bâtonnets.

La grande irrégularité de ces cellules provient de ce que, logées dans les mailles si compliquées du réseau élastique de la tunique moyenne, elles en prennent l'empreinte, mais leur forme pourrait dépendre aussi d'une autre cause. En effet, elles ne sont pas sans analogie avec les éléments du muscle cardiaque, surtout si on les compare aux cellules musculaires du cœur de la grenouille isolées après l'action de la potasse à 40 pour 100. On pourrait dès lors les considérer comme des représentants d'une forme intermédiaire entre les cellules contractiles des petites artères et celles du cœur. Elles diffèrent cependant de ces dernières en un point essentiel : les cellules

du cœur présentent une striation transversale et longitudinale, tandis que celles de l'aorte ne sont pas striées en travers et ne possèdent qu'une striation longitudinale vague.

Dans les préparations de la tunique moyenne obtenues par dissociation, on trouve constamment, mélangés aux fibres élastiques et aux fibres musculaires, quelques faisceaux du tissu conjonctif, caractérisés par l'ondulation spéciale des fibrilles qui les constituent et par leurs réactions microchimiques.

Ce sont ces faisceaux de tissu conjonctif répandus entre les éléments de la tunique moyenne qui ont été pris par Gimbert pour une substance amorphe, ainsi que Kölliker[1] le fait justement remarquer.

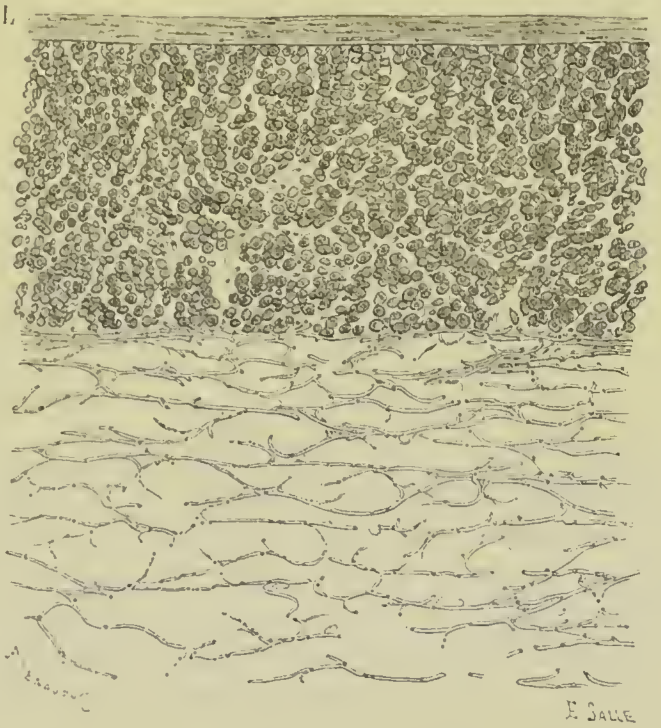


Fig. 216. — Coupe longitudinale de la radiale de l'homme faite après dessiccation. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine additionnée d'acide formique. — I. tunique interne; L. lame élastique interne; M. tunique moyenne; E. tunique externe. — 150 diamètres.

Il faut noter que, dans les coupes de l'aorte du veau, outre les cellules musculaires contenues dans le réseau élastique, on rencontre, dans la couche profonde de la tunique moyenne, un nombre plus ou moins considérable de vaisseaux sanguins, artères, veines et capillaires. Dans la tunique moyenne de l'aorte de l'homme il n'y a rien de semblable. Les vaisseaux sanguins et lymphatiques que, dans le vieux langage anatomique, on désignait sous le nom de *vasa vasorum*, se montrent seulement dans la tunique externe. Ce n'est que dans certains cas d'artérite que l'on voit des vaisseaux sanguins pénétrer dans la tunique moyenne, et alors ils sont presque toujours entourés d'une quantité plus ou moins considérable de tissu connectif ordinaire[2].

Artères du type musculaire. — En allant de l'aorte jusqu'aux artérioles, on rencontre des formes intermédiaires; bientôt cependant les artères perdent le type élastique pour prendre ce que nous avons appelé le type musculaire. Ce type existe déjà dans la crurale et l'humérale. Les carotides sont les seuls vaisseaux artériels de leur calibre qui conservent le type élastique. Cette disposition est probablement en rapport avec l'importance de la circulation cérébrale et la régularité qu'elle doit avoir. En effet, l'existence

1. *Kölliker.* Histol., 2e édition française, p. 762.
2. *Cornil* et *Ranvier.* Manuel d'histologie pathologique, p. 542.

des lames élastiques dans une artère assure au vaisseau un calibre plus constant, d'une part, et d'autre part elle amortit le choc de l'ondée sanguine.

Comme exemple d'artère du type musculaire franc, on peut choisir la fémorale, l'humérale, la radiale, etc., de l'homme. Leur tunique interne est constituée par une substance connective striée et vaguement fibrillaire, au milieu de laquelle se montrent des cellules aplaties parallèlement à l'axe du vaisseau et un réseau élastique formé de fibres fines. Cette tunique est limitée par la lame élastique interne. La tunique externe est formée dans ces artères, comme dans l'aorte, par des faisceaux de tissu conjonctif à direction longitudinale et par un réseau de grosses fibres élastiques. Au voisinage de la tunique moyenne, ce réseau est serré, et quelques faisceaux connectifs de la tunique externe, perdant leur direction longitudinale, s'incurvent et pénètrent horizontalement dans la tunique moyenne.

La tunique moyenne de toutes les artères que nous considérons en ce moment est constituée par des cellules musculaires qui, dans les coupes longitudinales, sont sectionnées en travers et paraissent réunies en petits groupes. Ces groupes sont séparés les uns des autres par des faisceaux de tissu conjonctif entre lesquels il existe des cellules plates et munies de crêtes d'empreinte. A côté de ces faisceaux et entre eux, se montrent des fibres élastiques qui, en général, sont coupées en travers sur les sections longitudinales. Des fibres semblables, mais plus fines, apparaissent encore dans l'intérieur des petits groupes des cellules musculaires. Toutes ces fibres élastiques forment un réseau qui se continue d'une part avec la lame élastique interne et d'autre part avec les grosses fibres élastiques de la tunique externe.

A un faible grossissement, la tunique moyenne de ces artères paraît être formée d'une membrane musculaire comprise entre deux membranes élastiques, la lame élastique interne et le réseau élastique de la tunique externe. Mais à un grossissement plus considérable, 300 à 500 diamètres, on peut facilement reconnaître, dans la tunique moyenne, l'existence du réseau élastique et des faisceaux connectifs dont nous avons parlé.

Il convient d'ajouter que les faisceaux de tissu conjonctif et les fibres élastiques de la tunique moyenne sont de moins en moins importants à mesure que l'on considère des branches artérielles plus petites. Abondants et volumineux dans la fémorale et l'humérale, ils sont encore appréciables dans la radiale et la pédieuse, et ils finissent par disparaître complètement dans les artérioles, où le système élastique n'est plus représenté que par la lame élastique interne et le faible réseau de la tunique externe[1].

---

1. Les éléments connectifs et élastiques de la tunique moyenne des artères à type musculaire sont d'autant plus volumineux et plus abondants, toutes choses égales d'ailleurs, que le sujet chez lequel on les considère est plus avancé en âge. Chez les vieillards, par exemple, il n'est pas rare de trouver dans la fémorale et l'humérale un développement si

CHAPITRE XI

VEINES

Depuis leur origine dans le réseau capillaire jusqu'aux grosses branches veineuses qui sont à la racine des membres, les veines conservent le même type de structure. Mais, lorsqu'elles pénètrent dans les cavités viscérales du tronc, elles subissent des modifications plus ou moins considérables qui augmentent leur complexité ou au contraire la diminuent. Il y a donc à ce point de vue, entre le système veineux et le système artériel, une différence notable.

Les méthodes à suivre dans l'étude des veines devront varier suivant leur dimension, c'est-à-dire suivant qu'il s'agira des veinules, qui peuvent être soumises tout entières à l'observation microscopique, ou des grosses veines, dont l'examen histologique ne peut se faire que sur des coupes.

Veinules. — Les différentes méthodes de recherches que nous avons indiquées à propos des artérioles conviennent également pour les veinules : dissociation dans les organes mous, injection interstitielle dans le tissu conjonctif lâche ou diffus, extension des membranes vasculaires, imprégnation d'argent par injection, teinture au moyen des différents réactifs colorants (voy. p. 425).

Entre les veinules et les artérioles il y a des différences qui portent principalement sur la forme des cellules endothéliales, sur la lame élastique interne et sur la tunique musculaire.

Dans les membranes et les autres organes dont les vaisseaux ont été imprégnés d'argent par injection, les veinules peuvent être distinguées des artérioles par la forme des cellules endothéliales. Dans les petits rameaux veineux, les cellules endothéliales sont moins longues et plus larges que dans les artères correspondantes. La lame élastique interne y fait défaut ou se montre sous la forme de fibrilles élastiques longitudinales, tandis qu'elle est nettement accusée dans les artérioles de même calibre. Mais les différences les plus considérables portent sur la tunique musculaire. Tandis que les fibres musculaires forment sur les artérioles une couche continue, il y a autour des veinules seulement quelques cellules musculaires disséminées et dont la direction est transversale.

L'étude comparative des veinules et des artérioles sera faite avec avantage dans des membranes colorées par le picrocarminate et conservées dans

considérable des éléments connectifs, que ces éléments sont devenus beaucoup plus importants que les éléments musculaires. En même temps, la tunique interne a subi une hypertrophie notable qui s'est produite d'une façon irrégulière, de sorte que cette tunique, dans une coupe longitudinale par exemple, présente une épaisseur très variable suivant les points que l'on examine. Par contre, chez les embryons humains de cinq à six mois, la tunique interne semble faire complètement défaut, et l'endothélium paraît reposer directement sur la lame élastique interne.

la glycérine acidifiée ou dans ces mêmes membranes teintes à l'hématoxyline et examinées soit dans la glycérine, soit dans le baume du Canada. Cette différence pourra être reconnue également dans les vaisseaux complètement isolés par un des procédés qui ont déjà été indiqués, surtout après leur avoir fait subir l'action des acides faibles.

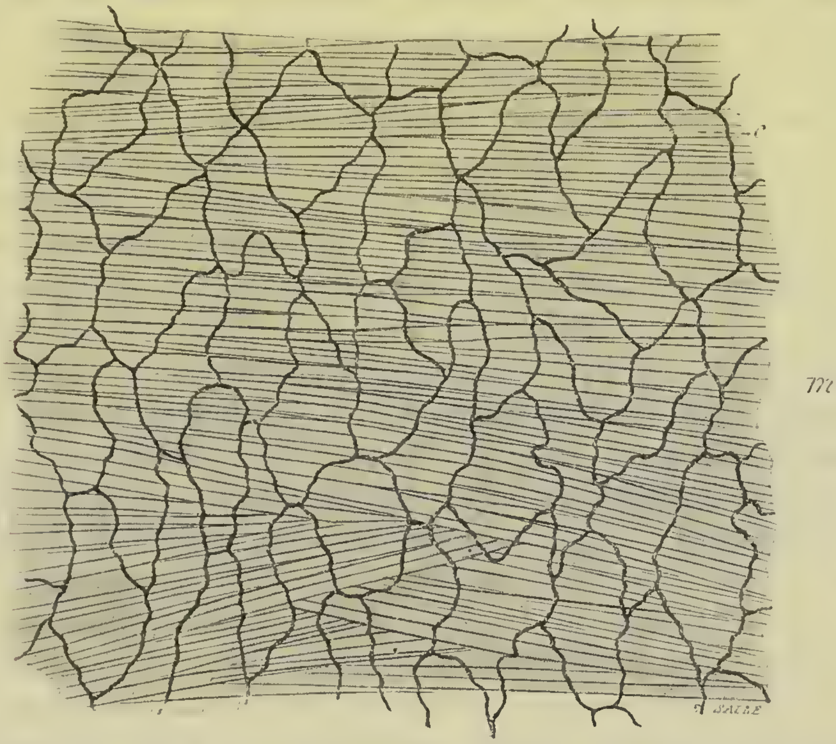
Parmi les diverses membranes où on peut faire un examen comparatif des différentes parties de leur système vasculaire, il n'en est pas qui offrent des avantages aussi considérables que le grand épiploon du lapin, surtout s'il est recueilli chez un animal adulte dont on a injecté les vaisseaux sanguin avec une masse de bleu de Prusse à la gélatine. La membrane, abandonnée pendant vingt-quatre heures dans le liquide de Müller ou le bichromate d'ammoniaque, ou bien plongée dans une solution d'acide picrique pendant quelques minutes, colorée au picrocarminate, convenablement tendue sur une lame de verre et conservée dans la glycérine, constitue un objet d'étude remarquable. Les artérioles, reconnaissables à la disposition de leur tunique musculaire, émettent des ramifications dont les dernières aboutissent au réseau capillaire et se continuent avec lui sans ligne de démarcation tranchée, si l'on tient compte seulement de la forme générale, sans considérer la structure. Il en est tout autrement des veines. Ces dernières, qui se distinguent des artères correspondantes par un calibre plus considérable et par la rareté des éléments musculaires à direction transversale, ont des ramifications terminales qui affectent avec le réseau capillaire des rapports tout spéciaux. Nous ne trouvons plus là, en effet, cette continuité apparente que nous avons vu exister entre les artérioles et les capillaires. Entre ces derniers vaisseaux et les veinules, il y a une limite nette qui provient de ce que la veine se termine par un cul-de-sac ou un léger renflement dans lequel viennent s'ouvrir les vaisseaux capillaires.

Cette disposition peut être observée dans d'autres organes, mais elle ne se montre dans aucun avec une aussi grande évidence. Lorsque nous étudierons le développement des vaisseaux, nous observerons des faits qui nous en feront comprendre la véritable signification.

Veines de moyen et de gros calibre. — Les veines d'un calibre notable sont formées, comme les veinules, de couches superposées qui peuvent être distinguées les unes des autres. On y rencontre, de dedans en dehors : une membrane endothéliale qui se continue d'une part avec l'endothélium du cœur et de l'autre avec celui des artères par l'intermédiaire des capillaires; une couche connective sous-endothéliale reposant sur une lame élastique interne; enfin une dernière enveloppe dont nous aurons à discuter la signification morphologique, composée de faisceaux de tissu connectif, de fibres élastiques et de cellules musculaires lisses, en quantité variable suivant les veines. Notons cependant que, parmi les grosses veines, la veine cave inférieure au-dessus du diaphragme et la veine cave supérieure ne possèdent pas de fibres musculaires lisses.

Avant d'aborder la description de ces variétés, nous allons exposer les méthodes à l'aide desquelles les grosses veines peuvent être étudiées.

L'imprégnation d'argent fournit, pour les veines dont la paroi est mince, de belles préparations. Prenons comme exemple la jugulaire du lapin. Après avoir sacrifié l'animal, on découvre par une incision la veine jugulaire dans toute sa longueur. Une ligature y est d'abord placée à son extrémité antérieure; au moyen d'une pression exercée avec le doigt, on en chasse le sang et l'on met une seconde ligature à son extrémité postérieure. Par une incision faite au-dessous de la première ligature, à l'aide d'une seringue ou d'une pipette, on remplit la veine d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Lorsque l'imprégnation est produite, on remplace la solution d'argent par de l'eau distillée que l'on renouvelle à plusieurs reprises; finalement, la veine est insufflée, et l'air y est maintenu au moyen d'une troisième ligature. Détachée alors du corps de l'animal, elle est abandonnée à



g. 217. — Veine jugulaire du lapin, imprégnée d'argent par injection limitée. Dessiccation. Éclaircissement dans l'essence de girofle. — *m*, fibres musculaires lisses dont les limites sont accusées par le dépôt d'argent; *c*, cellules endothéliales. — 250 diamètres.

la dessiccation. Lorsqu'elle est sèche, on en sépare des segments que l'on éclaircit en les imbibant d'essence de térébenthine ou d'essence de girofle pour les monter ensuite dans le baume du Canada.

Ce procédé a l'avantage de montrer l'endothélium tel qu'il est à l'état normal et non ratatiné. La veine insufflée est en effet tendue comme elle l'est à l'état vivant par le cours du sang, et les rapports normaux sont conservés. Les cellules endothéliales (fig. 217) sont polygonales, irrégulières, s'engrenant les unes dans les autres; quelques-unes possèdent une échancrure dans laquelle une de leurs voisines vient s'engager.

Au-dessous des cellules endothéliales, l'imprégnation a dessiné les limites des cellules musculaires. Ces dernières ont une direction transversale; mais elle n'est pas absolue, et beaucoup de fibres musculaires sont légèrement

obliques à l'axe du vaisseau. Groupées en certain nombre, elles forment des faisceaux lamelleux qui s'entre-croisent.

Les veines de l'homme, recueillies vingt-quatre heures après la mort, soumises à l'imprégnation d'argent, ne fournissent souvent aucun dessin endothélial, et lorsqu'il existe, c'est seulement dans quelques portions où il est même fort irrégulier. Le plan musculaire sous-jacent, au contraire, y est nettement marqué. C'est ainsi que, dans la saphène interne et dans la crurale, par exemple, imprégnées d'argent par immersion, les fibres musculaires sont nettement limitées par les lignes d'imprégnation. Elles ont une direction généralement transversale; cependant quelquefois elles sont entre-croisées, et cela de différentes manières. Les figures qu'elles forment se combinent avec le dessin des cellules conjonctives plates de la tunique interne que l'imprégnation d'argent a ménagées en blanc sur un fond légèrement teinté. Il est à noter encore que, dans beaucoup de points, les cellules musculaires, au lieu d'être séparées seulement par un liséré noir très-fin, laissent entre elles des intervalles plus ou moins grands, formant des zones foncées. Ces intervalles, qui correspondent à des masses de tissu conjonctif, limitent des faisceaux musculaires aplatis, rectilignes ou recourbés, qui s'entre-croisent ou s'anastomosent les uns avec les autres d'une manière variée. La même disposition peut être observée sur la veine jugulaire du chien.

La paroi des veines doit être étudiée dans des coupes longitudinales et transversales faites après dessiccation. Ces coupes sont pratiquées suivant la méthode déjà indiquée pour les artères : dessiccation rapide de la veine ouverte et régulièrement tendue sur une lame de liège, la face interne du vaisseau étant exposée à l'air; inclusion dans une rainure pratiquée dans un bouchon de liège; section très-mince, en guidant un rasoir à tranchant résistant sur la surface de liège légèrement déprimée; coupes, placées d'abord dans l'eau, colorées au picrocarminate, lavées de nouveau, étendues régulièrement sur la lame de verre au moyen de la demi-dessiccation; addition de glycérine acidifiée avec de l'acide formique (voy. p. 428).

Ces indications générales ne suffisent que pour les veines de très gros calibre, telles que la veine cave inférieure et les troncs principaux qui en partent. Pour la préparation des autres veines il y a certains détails de technique importants à connaître. Dans la constitution de ces vaisseaux il entre toujours beaucoup de tissu conjonctif fasciculé; les éléments élastiques et musculaires y sont beaucoup moins abondants que dans les artères. De là vient que les coupes de ces veines placées dans l'eau se désagrègent facilement ou se replient sur elles-mêmes d'une manière si compliquée, qu'il n'est pas facile ensuite de les étendre convenablement. Cette extension est particulièrement difficile pour les coupes longitudinales comprenant des valvules; il importe cependant d'étudier ces dernières avec soin, soit dans leur structure, soit dans leurs rapports. Voici comment il faut procéder : Lorsque avec le rasoir on a détaché une coupe sous la forme d'un copeau extrêmement mince, on la place sur une lame de verre; on la ramollit au

moyen de l'haleine et on l'étale à mesure en se servant de la pointe d'une aiguille, jusqu'à ce que la vapeur d'eau, en se condensant sur la lame de verre, ait formé autour du tissu une petite couche liquide dans laquelle il se développe régulièrement en reprenant une étendue égale à celles de la paroi veineuse normale. Si la section comprend une valvule, celle-ci devra être étalée avec beaucoup de soin, de manière que ces rapports normaux soient respectés. Abandonnant alors la préparation, on attend que le tissu soit à moitié desséché pour y ajouter une goutte de picrocarminate et recouvrir d'une lamelle. Toutes ces précautions ont pour but d'arriver à colorer la préparation et à mettre la lamelle sans déranger la coupe de la position qu'on est arrivé à lui donner sur la lame de verre.

Lorsque la coloration est produite, on substitue sous la lamelle la glycérine au picrocarminate, et, pour obtenir des préparations persistantes, il suffit alors de border suivant les règles. Les noyaux des cellules musculaires y sont colorés en rouge, le corps de ces cellules en jaune orangé, les fibres élastiques en jaune, les faisceaux connectifs en rose et les noyaux des cellules connectives qui les recouvrent en rouge, comme les noyaux musculaires.

Dans une coupe longitudinale de la jugulaire interne de l'homme, on reconnaît, de dedans en dehors, la couche connective interne mince entremêlée de noyaux connectifs et de fibres élastiques très fines, un premier réseau élastique correspondant à la lame élastique interne, et, partant de ce dernier, tout un réseau élastique dont les mailles, d'abord serrées, deviennent de plus en plus larges. Les premières de ces mailles contiennent des cellules musculaires à direction transversale, qui par conséquent sont coupées en travers dans la coupe longitudinale, et des faisceaux connectifs de faible diamètre. Les suivantes sont comblées par des faisceaux de tissu conjonctif entre lesquels se voient des cellules connectives plates, munies de crêtes d'empreinte, lorsqu'elles se trouvent à l'intersection de trois faisceaux; elles sont analogues, par conséquent, aux cellules des tendons.

La couche musculaire de la jugulaire interne est extrêmement mince; elle est formée seulement de deux ou trois rangées de cellules, isolées ou groupées en petit nombre. C'est la raison pour laquelle elles ont échappé à plusieurs observateurs.

Dans les coupes transversales de la jugulaire, les fibres musculaires se montrent suivant leur longueur et forment de petits faisceaux discontinus. Cette observation est en rapport avec celle que nous avons faite sur la veine jugulaire du lapin imprégnée d'argent et examinée à plat.

Dans la fémorale, l'humérale et les veines sous-cutanées de l'homme, les éléments musculaires sont beaucoup plus abondants; ce qui paraît être en rapport avec les fonctions de ces veines, puisqu'elles doivent ramener le sang contre la pesanteur. Les cellules musculaires, qui toutes ont une direction transversale, forment, au-dessous de la tunique interne, une couche serrée, mais qui devient de plus en plus lâche vers la périphérie. Dans cette région, pour remplir les mailles du réseau formé par les fibres élastiques,

des faisceaux connectifs leur sont alors associés. Un peu plus loin, ces faisceaux occupent seuls, avec leurs éléments cellulaires spéciaux, les mailles du réticulum. Les cellules musculaires, abondantes d'abord, diminuent donc insensiblement depuis la tunique interne jusqu'à la portion externe de la veine où il n'y a plus que du tissu connectif et élastique.

Les coupes longitudinales de la veine cave inférieure dans sa portion abdominale montrent, au-dessous de sa tunique interne, des fibres musculaires transversales, puis une couche beaucoup plus épaisse de fibres semblables à direction longitudinale. Les éléments musculaires périphériques, mélangés à des faisceaux connectifs, disparaissent peu à peu au milieu du réticulum élastique, sans former non plus de ligne de démarcation bien nette.



Fig. 218. — Coupe longitudinale de la veine crurale de l'homme au niveau d'une valvule, faite après dessiccation. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine. — V, paroi de la veine; *va*, valvule au niveau de sa base; *n*, tunique interne au-dessous de la valvule; *n'*, tunique interne du sinus veineux; *n''*, couche connective sous-endothéliale de la face interne de la valvule; *n'''*, couche connective sous-endothéliale de la face externe de la valvule; *b*, bourgeon qui se trouve à l'angle dièdre formé par la paroi veineuse et la valvule; *o*, fibre musculaire coupée en travers. — 100 diamètres.

Comme nous ne nous proposons pas une description complète de tout le système veineux, ces quelques exemples suffiront; nous devons y ajouter une étude des valvules.

Valvules. — Les valvules des veines, recueillies sur la jugulaire ou sur toute autre veine, imprégnée d'argent, insufflée et séchée, lorsqu'elles sont montées dans le baume du Canada ou dans la glycérine, laissent voir un revêtement endothélial sur leurs deux faces. Sur la face interne, celle qui correspond au cours du sang, le grand diamètre des cellules endothéliales est dans le sens de l'axe du vaisseau, sur la face externe, le grand diamètre des cellules est au contraire transversal. Cette disposition semble être générale; elle existe également chez le chien et chez le lapin. Elle est en rapport avec la circulation sanguine, qui paraît par conséquent exercer une certaine influence sur la forme des cellules de la paroi des vaisseaux.

Enlevées avec des ciseaux sur des veines insufflées et desséchées, les valvules, colorées au picrocarminate, présentent à l'observation des faisceaux connectifs dont la direction générale est parallèle au bord libre de la valvule, un réticulum élastique et des noyaux de forme variée, arrondis ou allongés.

Pour déterminer la situation de ces différents éléments dans l'épaisseur de la valvule et même pour acquérir une notion plus complète des parties qui la constituent, il est nécessaire d'en faire l'examen sur des coupes longitudinales exécutées suivant les indications que nous avons données plus haut. A ce propos, nous ne saurions trop insister sur l'importance qu'il y a à ce que ces coupes soient extrêmement minces et étalées convenablement. Il faut même ajouter que si, par exemple, sous l'influence de la pression exercée par la lamelle à recouvrir, les tissus sont déjetés, même très faiblement, il est impossible de faire une bonne observation. Dans les coupes bien réussies, voici ce qu'on observe :

La couche sous-endothéliale n'est pas la même sur les deux faces de la valvule. Sur la face interne, celle qui correspond au cours du sang, elle est semblable à la tunique interne de la veine dans la région sous-jacente ; elle semble être une continuation de cette dernière. Sur la face externe de la valvule, elle est beaucoup plus mince et moins riche en éléments élastiques. Sur le bord libre, ces deux couches s'unissent et se confondent. Entre elles, pour constituer la membrane valvulaire proprement dite, sont disposés des faisceaux connectifs séparés les uns des autres par quelques fibres élastiques et des cellules connectives.

Au-dessus de la valvule, la veine forme, comme on le sait, un sinus, c'est-à-dire qu'elle présente une portion légèrement renflée, visible à l'extérieur sur une veine gonflée par le sang ou insufflée. Lorsque le sang passe dans la veine, la valvule est rabattue contre la paroi du sinus. Il importe que les deux surfaces qui se regardent soient exactement appliquées l'une sur l'autre. A cet effet, dans l'angle laissé entre la membrane valvulaire et la paroi de la veine, il existe une série de crêtes qui, sur la coupe longitudinale, donnent la figure de bourgeons (*b*, fig. 204) se correspondant exactement.

Pour terminer cette description, il convient d'ajouter que des fibres musculaires à direction transversale occupent la base de la valvule[1], et que la tunique interne qui tapisse le sinus veineux a une structure et une épaisseur comparables à celles de la couche externe de la valvule.

A propos des valvules des veines, nous rappellerons que les valvules du cœur (sigmoïdes, tricuspide et mitrale) montrent aussi sur celle de leurs faces qui correspond au cours du sang une épaisseur plus considérable de la couche connective et élastique sous-endothéliale. Il s'agit donc là d'une disposition très générale en rapport avec des conditions physiologiques. La minceur de la tunique interne des veines au niveau des sinus, où elle est protégée contre le cours du sang par la présence des valvules, vient encore à l'appui de notre manière de voir.

La description des veines que l'on trouve dans les traités classiques diffère en plusieurs point de celle que nous avons donnée. Kölliker[2] et Eberth[3],

1. Cette observation est en rapport avec celle de Wahlgren, qui cependant est contredite par Eberth (*Manuel de Stricker*, p. 201).

2. *Kölliker*, Éléments d'histologie humaine, trad. française, 2e édit., p. 762.

3. Eberth, dans son exposé systématique sur le système veineux (*Manuel de Stricker*, p. 198), divise les veines de la façon suivante :

par exemple, admettent d'abord que les veines ont trois tuniques, et, lorsque dans leur structure il entre des fibres musculaires, ils les placent tantôt dans la tunique interne, tantôt dans la moyenne, tantôt dans l'externe et quelquefois dans les trois en même temps. Mais, comme nous l'avons vu, en dehors la limite des fibres musculaires dans les parois veineuses ne se fait pas d'une manière tranchée, de telle sorte qu'il serait difficile de déterminer le point où finit la tunique moyenne et où commence la tunique externe.

En réalité, les veines ne sont pas composées de trois tuniques comme les artères sur le modèle desquelles on calque généralement leur description. Elles ne possèdent que deux tuniques nettement distinctes : une tunique interne, constituée par l'endothélium et la couche connective sous-endothéliale, et une tunique externe dans laquelle le tissu conjonctif entre d'habitude pour la plus grande part et auquel se trouvent mélangées des fibres musculaires lisses, dont le nombre et la direction varient dans les différents ordres de vaisseaux.

CHAPITRE XII

CAPILLAIRES

Les histologistes doivent considérer dans les capillaires sanguins leur structure, la disposition des réseaux qu'ils forment et la manière dont s'y fait la circulation. Chacun de ces points de vue exige des méthodes spéciales, ce qui nous conduit à en faire autant de paragraphes distincts.

Structure des capillaires. — Les premières recherches sur la structure des capillaires sanguins ont été faites sur ces vaisseaux complètement isolés et examinés dans l'eau. Pour faire cet examen, les vaisseaux capillaires étaient généralement extraits d'organes mous, de la substance desquels il était facile de les séparer. (Pour plus amples renseignements sur les méthodes.

1° Les veines qui ne contiennent pas de muscles :

Les veines de la pie-mère et de la dure-mère, les veines des os du crâne, de la rétine, les segments inférieurs des veines du tronc qui se jettent dans la veine cave supérieure, les veines jugulaires interne et externe, la sous-clavière, les veines du placenta maternel.

2° Les veines qui contiennent des muscles et qui, d'après la disposition des éléments musculaires, se divisent en quatre groupes :

Veines avec des fibres longitudinales : Les veines de l'utérus gravide.

Veines avec une couche interne de fibres circulaires et une couche externe de fibres longitudinales : La veine cave dans le foie et au-dessous du foie, les veines azygos, porte, hépatique, spermatique interne, rénale et axillaire.

Veines avec une couche interne et externe de fibres longitudinales et une couche moyenne de fibres transversales : Les veines iliaque, crurale, poplitée, les veines mésentériques et la veine ombilicale.

Veines avec des fibres musculaires transversales : Les veines du membre supérieur, une partie de celles du membre inférieur, les petites veines du cou, la mammaire interne et les veines de l'intérieur du poumon.

voy. article *Artérioles*, p. 425.) Cette séparation est rendue plus facile si la pièce est mise à macérer pendant quelques jours dans le sérum iodé, l'acide chromique ou les bichromates dilués, l'alcool au tiers, etc. Quelle que soit celle de ces méthodes d'isolation que l'on emploie, que les vaisseaux soient examinés sans coloration ou après coloration par le carmin, l'hématoxyline, le chlorure d'or, etc., la disposition des capillaires sanguins paraît toujours la même. Ils semblent être formés d'une membrane mince, transparente, enroulée en forme de tube, dans l'épaisseur de laquelle il y a des noyaux incolores, susceptibles de prendre une coloration plus ou moins intense sous l'influence des matières colorantes qui viennent d'être indiquées.

Étudiés dans des membranes munies d'un réseau capillaire, telles que le mésentère de divers animaux, le grand épiploon du lapin, la membrane hyaloïde de la grenouille, les expansions membraneuses de la queue des têtards, etc., avec ou sans coloration, ces vaisseaux se montrent encore avec la même structure apparente.

On connaissait déjà l'endothélium des artères et des veines, et, comme on ne constatait pas l'existence d'un endothélium semblable sur la surface interne des vaisseaux capillaires, on était conduit à admettre l'indépendance morphologique de ces vaisseaux. Kölliker[1] les ayant vus se développer aux dépens de cellules creuses, étiolées et anastomosées, qui s'élargiraient peu à peu pour recevoir le sang, on croyait que leur calibre correspondait à une cavité cellulaire.

L'application d'une méthode nouvelle vint complètement renverser ces données théoriques. En examinant au microscope des vaisseaux sanguins qu'il avait imprégnés avec une solution de nitrate d'argent, Hoyer[2] a constaté que le revêtement endothélial des artères et des veines se poursuit dans toute l'étendue du réseau capillaire. Ces premières données ont été vérifiées et étendues par les recherches d'un grand nombre d'histologistes, Eberth[3] en particulier, qui a reconnu l'existence de l'endothélium des vaisseaux capillaires chez un grand nombre d'espèces animales. Aujourd'hui, il n'est pas un histologiste qui n'ait observé le revêtement endothélial de ces vaisseaux après l'action du nitrate d'argent. Quelques points seulement de cette structure sont encore en discussion.

Pour imprégner d'argent un réseau capillaire, on peut avoir recours à deux méthodes : l'immersion ou l'injection. La première convient seulement pour étudier les vaisseaux contenus dans des membranes minces qui se laissent facilement pénétrer par les solutions de nitrate d'argent : le mésentère de la grenouille et des petits mammifères, le centre phrénique du lapin, etc. Pour l'appliquer, on maintient pendant au moins une heure la membrane dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500, puis elle est placée pen-

1. *Kölliker*, Annales des Sciences naturelles, 3e série, t. VI, 1846, p. 91.

2. *Hoyer*. Ein Beitrag zur Histologie bindegewebiger Gebilde. *Arch. f. Anatomie u. Physiologie*, 1865, p. 244.

3. *Eberth*. Ueber den feineren Bau der Blutcapillaren bei den Wirbelthieren. *Centralblatt*, 1865, p. 196.

dant dix ou douze heures dans l'eau distillée. On chasse alors au pinceau le revêtement endothélial des surfaces, et la membrane convenablement étendue est montée en préparation persistante, soit dans la glycérine, soit dans le baume du Canada. Le succès n'est pas toujours complet, mais quelquefois le réseau capillaire est imprégné d'une manière suffisamment régulière pour fournir un bon objet d'étude.

L'organe électrique de la torpille (voy. plus loin : *Nerfs périphériques*) est constitué par un grand nombre de prismes, composés eux-mêmes de lames extrêmement minces, superposées comme les feuillets d'un livre. Ces lames sont séparées les unes des autres par du tissu muqueux dans lequel est placé un réseau de gros capillaires. Pour imprégner d'argent les vaisseaux de ce réseau, on pourra employer la méthode suivante, qui, pour sa simplicité et les bons résultats qu'elle fournit, mérite d'être signalée. La peau qui recouvre l'organe électrique étant enlevée dans une petite étendue par une incision faite avec le rasoir parallèlement à sa surface, on passe à plusieurs reprises un crayon de nitrate d'agent sur la base des prismes mis à nu, puis on les enlève avec des ciseaux pour les plonger dans de l'eau distillée. Agissant alors avec des aiguilles, on arrive à isoler les lames électriques; quelques-unes sont encore recouvertes de leurs vaisseaux capillaires, dont les cellules endothéliales sont séparées les unes des autres par des traits noirs d'imprégnation.



Fig. 219. — Capillaires du poumon de la grenouille, imprégnés d'argent par injection. — 500 diam.

L'injection de tout le système vasculaire d'un animal, ou seulement d'une de ses parties, avec une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 ou à 1 pour 800, constitue la méthode qui est le plus souvent employée pour démontrer l'existence de l'endothélium vasculaire. Chez la grenouille, il convient de faire des injections générales. Le sternum étant enlevé et le péricarde excisé, la pointe du cœur est ouverte et l'animal est abandonné à lui-même pendant plusieurs heures, afin de le débarrasser autant que possible du sang contenu dans le système vasculaire. Une canule, introduite par la pointe du cœur réséquée, est conduite jusque dans le bulbe aortique sur lequel on la lie, en laissant en dehors de la ligature tous les autres vaisseaux qui entrent dans le cœur. Cette canule étant ajustée à une seringue en verre au moyen d'un tube en caoutchouc, on injecte 10 ou 12 centimètres cubes d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 800 Le liquide, entraînant le sang qui reste encore dans le système vasculaire, s'échappe entre la paroi ventriculaire et la canule. Une ligature en masse étant alors posée, on continue l'injection de manière à remplir exactement tous les vaisseaux.

Chez le lapin, on obtient de bonnes pièces d'études en injectant la solution de nitrate d'argent par une branche de l'artère mésentérique, en laissant ouvertes les veines correspondantes pendant la première partie de l'opération et les fermant ensuite par une ligature pour finir l'injection. Lorsque celle-ci est terminée, l'imprégnation est généralement produite, et les pièces peuvent être placées dans l'eau distillée ou mieux encore dans l'alcool au tiers, pour en détacher certaines portions destinées à l'examen.

Si l'organe dont les vaisseaux ont été imprégnés par injection doit être coupé, il faut, après l'avoir fait dégorger dans l'alcool au tiers, le mettre à durcir dans de l'alcool fort; mais il vaut beaucoup mieux étudier un réseau capillaire complet dans une membrane étalée, conservée dans la glycérine ou dans le baume du Canada.

Quelle que soit celle de ces méthodes que l'on ait employée, en exami-



Fig. 229. — Vaisseau capillaire du mésentère de la grenouille, imprégné d'argent par injection et coloré au picrocarminate. — 550 diamètres.

nant la préparation avec un faible grossissement qui permette de distinguer les dernières ramifications artérielles, le réseau capillaire et les dernières ramifications veineuses, il sera possible de constater que le revêtement endothélial de ces différents ordres de vaisseaux est continu, et que dans tous il se présente avec le même caractère. Il y est formé de cellules plates, allongées suivant l'axe du vaisseau et d'autant plus étroites que son calibre est moins large. Aussi sont-elles plus étroites dans les capillaires que dans les artérioles, tandis que dans les veines elles s'élargissent de nouveau.

Dans les préparations qui, après imprégnation d'argent, sont colorées au picrocarminate et montées dans la glycérine additionnée d'acide oxalique, on peut constater dans presque toutes les cellules l'existence d'un noyau. Il se trouve souvent, entre les cellules, des surfaces incolores limitées par une ligne d'imprégnation, semblables à de petites cellules endothéliales, et qui cependant ne contiennent pas de noyau. C'est là ce que Auerbach[1] a rencontré dans l'endothélium des vaisseaux lymphatiques et qu'il a désigné sous le nom de fragments intercalaires (Schaltplatten).

Dans les préparations faites à l'aide des méthodes indiquées précédemment, on observe encore sur les plaques endothéliales, et le plus souvent au niveau des lignes intercellulaires, des taches noires arrondies ou de petits cercles incolores limités par une bordure noire, qui sont considérés

1. *Auerbach*. Untersuchungen über Lymph und Blutgefæsse, *Virchow's Arch.*, vol. 33, 1865, p. 385.

par quelques auteurs comme des stomates. J. Arnold[1] les distingue même, suivant leur diamètre, en stomates et en stigmates: les uns et les autres seraient des ouvertures préformées, destinées à livrer passage aux globules rouges et aux globules blancs dans le processus de la diapédèse.

Ces stomates, qui ont été surtout étudiés dans les vaisseaux du mésentère de la grenouille, à cause des expériences de Cohnheim, sont bien plus larges et plus nombreux lorsque, avant de faire l'imprégnation des vaisseaux, la membrane a été pendant quelques heures tirée au dehors de la cavité abdominale et exposée au contact de l'air. Or, on sait que, dans ces conditions, il se fait une diapédèse considérable; le nombre des stomates paraît donc dépendre de celui des globules du sang qui viennent de traverser les parois vasculaires. Cette observation conduirait à penser, contrairement aux conclusions de J. Arnold, que les stomates ne sont pas préformés, mais qu'ils sont produits dans les capillaires par le passage même des globules.

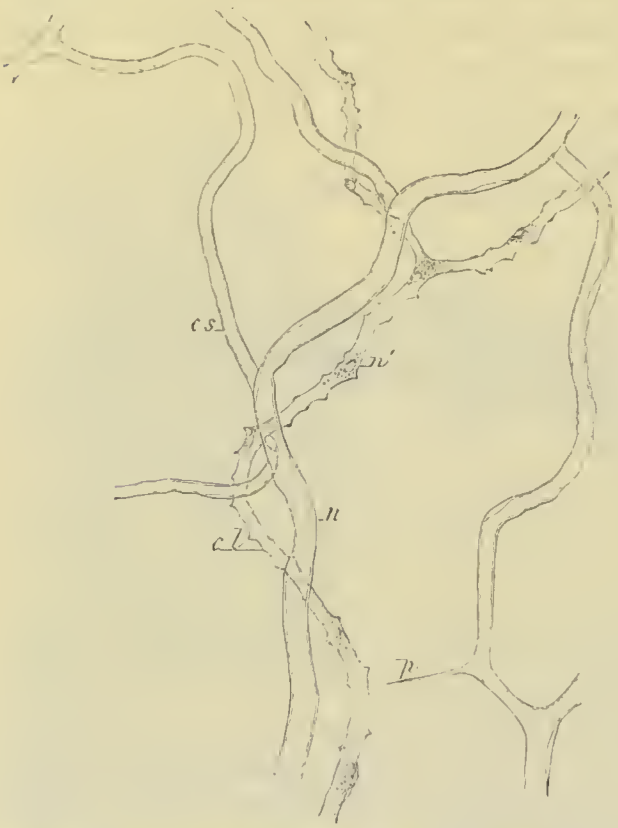


Fig. 221. — Capillaires sanguins et lymphatiques de l'expansion membraneuse de la queue d'un têtard vivant, la circulation continuant son cours. Les globules du sang n'ont pas été dessinés. — *c l*, lymphatique; *c s*, capillaire sanguin; *n*, noyaux des capillaires sanguins; *n'*, noyaux des lymphatiques; *p*, pointe d'accroissement des capillaires. — 250 diamètres.

Cette interprétation est rendue très probable par l'observation de ce qui se passe dans d'autres membranes minces soumises à l'attaque des globules blancs, le grand épiploon, par exemple (voy. p. 509). Déjà Eberth[2] avait fait remarquer que les stomates ne sont pas nécessaires pour comprendre le passage des globules du sang à travers la paroi molle et élastique des vaisseaux.

Il ne faudrait pas attribuer à des ouvertures toutes les taches noires que l'on observe dans des capillaires imprégnés d'argent; un certain nombre d'entre elles résultent de l'action du nitrate d'argent sur de petites masses d'albumine. Souvent ces masses sont assez considérables pour obstruer un capillaire et lui donner l'aspect d'un cylindre noir granuleux. Les faux stomates, produits par des grains d'albuminate d'argent fixés

1. *J. Arnold*. Ueber die Beziehung der Blut und Lymphgefässe zu den Saftkanaelchen. *Arch. de Virchow*, 1874, t. 62, p. 157.

2. *Eberth*, Capillaren, *Manuel de Stricker*, p. 204 et 205.

à la paroi des capillaires, sont beaucoup plus rares ou n'existent même pas du tout, si avant d'injecter le nitrate d'argent on a chassé le sang par une injection d'eau distillée, ou bien si, comme l'a fait Alferow[1], on emploie à la place du nitrate d'argent des sels à acide organique, tels que le picrate et le lactate d'argent. Il peut même se faire que, dans ces conditions, on obtienne des réseaux capillaires complets sans aucune tache noire, ni formée par des grains d'albumine, ni correspondant à des stomates.

Les préparations de capillaires injectés avec des solutions de sels d'argent présentent toujours une grande imperfection, consistant en ce que, la tunique ou les tuniques des vaisseaux revenant sur elles-mêmes après l'injection, les lignes intercellulaires sont ondulées ou même forment des zigzags. Pour corriger ce défaut, Chrzonszczewski[2] a rempli les capillaires qu'il voulait imprégner d'une masse composée de 15 grammes de gélatine dissoute dans 120 grammes d'eau, à laquelle il ajoutait 1gr,50 de nitrate d'argent dans 5gr,7 d'eau distillée. Cette masse, qui est liquide à une température de 30 à 40°, est injectée à cet état dans le système vasculaire, et, lorsqu'elle s'est refroidie, elle a produit l'imprégnation des capillaires tout en maintenant leur calibre; les lignes intercellulaires sont alors droites ou très légèrement sinueuses.

Chrzonszczewski croit avoir aussi trouvé dans les résultats que fournissent les injections avec la gélatine argentée le moyen de déterminer si les capillaires sont constitués simplement par un tube endothélial, ou si l'endothélium repose sur une membrane, comparable par exemple au sarcolemme. En certains points, il a observé que la masse a détaché quelques-unes des cellules du revêtement et que pourtant elle est restée tout entière au dedans du vaisseaux, sans qu'il se soit produit aucune fuite au dehors. Il y aurait donc une membrane au-dessous de l'endothélium.

L'observation des vaisseaux capillaires dans des parties vivantes (langue, espaces interdigitaux, poumon de la grenouille, expansion membraneuse de la queue des têtards, etc.), vient à l'appui de cette opinion (voy. fig. 221). Le double contour qui caractérise sur la coupe optique la paroi des capillaires sanguins possède une régularité tellement grande, qu'il est difficile d'admettre que cette paroi soit simplement constituée par des lames de protoplasma soudées les unes aux autres. Cette membrane, si tant est qu'elle existe, devrait être considérée comme le rudiment de la lame élastique interne des artérioles.

Dans les follicules lymphatiques, les vaisseaux capillaires sont revêtus d'une tunique externe formée par un lacis serré de fibrilles connectives (voy. *Ganglions lymphatiques*) à la surface périphérique duquel se trouvent appliquées des cellules plates du tissu conjonctif ou de l'endothélium lymphatique.

Dans d'autres parties, la tunique externe fibrillaire n'existant pas, il y a

1. *Alferow*. Nouveaux procédés pour les imprégnations à l'argent. *Arch. de physiologie*, 1874, p. 694.

2. *Chrzonszczewski*. Ueber die feinere Structur der Blutcapillaren. *Arch. de Virchow*, 1866, vol. 35, p. 169.

cependant à la surface externe des vaisseaux des cellules plates de tissu connectif qui ont contracté avec elle une union plus ou moins intime. Eberth leur a donné le nom de périthélium[1]. Ces cellules peuvent être facilement observées dans la membrane hyaloïde de la grenouille, étudiée fraîche dans l'humeur aqueuse ou dans le sérum iodé faible. On les voit également bien sur les vaisseaux capillaires des nerfs, dissociés après l'action de l'acide chromique ou l'acide osmique. Elles existent en nombre plus ou moins considérable sur tous les capillaires du tissu conjonctif diffus et peuvent y être reconnues à l'aide des méthodes de dissociation par injection interstitielle (voy. p. 271).

Dans la grande cavité représentée par le tissu conjonctif diffus, les cellules connectives sont donc disposées sur les vaisseaux capillaires de la même façon que sur les faisceaux de fibrilles, et, en se plaçant à ce point de vue, on peut dire qu'un capillaire sanguin et un faisceau connectif sont des équivalents.

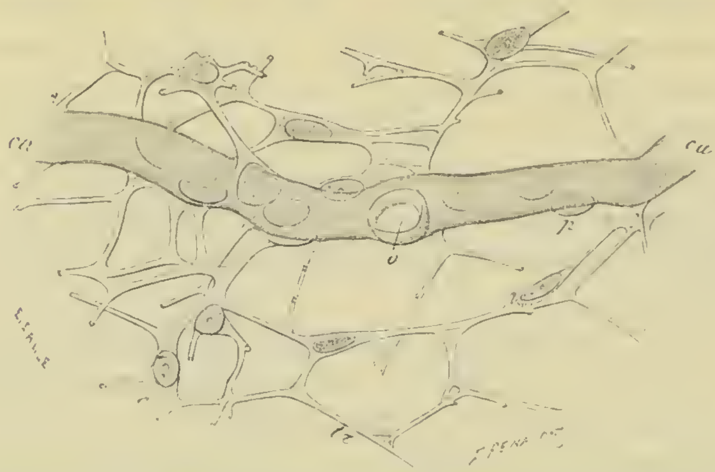


Fig. 222. — Vaisseau capillaire et tissu connectif réticulé d'un follicule de ganglion lymphatique du chien. — 600 diamètres.

Réseaux capillaires. — Les réseaux capillaires peuvent être étudiés dans des parties vivantes, la circulation y continuant son cours; nous y reviendrons dans le paragraphe suivant. Ils peuvent être examinés aussi dans des préparations dites d'injections naturelles. Dans ces préparations, le sang, accumulé d'abord dans les vaisseaux, y est fixé ensuite au moyen de réactifs, et, comme il est toujours facilement reconnaissable, il dessine exactement le parcours des réseaux capillaires. Ce procédé est applicable à un grand nombre d'organes, mais il convient surtout pour l'étude de parties qui sont assez minces pour être examinées sans qu'il soit nécessaire d'y faire des coupes (poumons et vessie de la grenouille, mésentère des petits animaux, etc.). Pour remplir de sang le réseau vasculaire de ces organes, il suffit quelquefois de les exposer à l'air, mais on y réussit toujours en plaçant les liens circulaires serrés d'une manière suffisante pour arrêter le cours du sang veineux sans gêner notablement la circulation artérielle. Lorsque cela est possible, il vaut encore mieux lier séparément les veines d'abord et les artères ensuite. Pour fixer le sang dans les vaisseaux, on emploiera avec avantage l'alcool absolu, l'alcool dilué additionné de chlorure de sodium (une partie d'alcool à 90° mélangé à deux parties d'eau distillée contenant 1 pour 100 de chlorure de sodium), l'acide picrique en solution saturée, le liquide de Müller.

1. *Eberth.* Capillaren, *Manuel de Stricker*, p. 206.

Lorsque l'on veut fixer les globules du sang dans des organes ayant une certaine masse et dans lesquels on doit faire des coupes, il convient d'employer l'alcool absolu ou le liquide de Müller. Pour préparer les membranes dont on doit chasser ensuite l'épithélium, les expansions membraneuses de la queue des têtards par exemple, il faut se servir de l'alcool dilué additionné de sel marin. Enfin, lorsque l'on se propose de fixer un réseau vasculaire rempli de sang dans une partie membraneuse, l'acide picrique présente de grands avantages.

Prenons par exemple le poumon de la grenouille, voici comment il faut procéder : chez l'animal vivant on pratique une incision sur un des côtés de la cavité viscérale en évitant de léser les veines; d'habitude le poumon apparaît rempli d'air. S'il ne l'est pas au moment de l'opération, la grenouille abandonnée à elle-même le gonfle bientôt au moyen de quelques mouvements de déglutition. On peut alors ou bien placer une ligature en masse sur le poumon dans les conditions précédemment indiquées, ou bien fermer par une suture la plus grande partie de l'incision que l'on a faite à la paroi abdominale, en laissant le poumon faire hernie au travers. Bientôt ce viscère subit une congestion intense; alors on place à sa base une ligature; on sépare la partie gonflée, et on la plonge dans une solution saturée d'acide picrique; elle y est maintenue plongée pendant une heure. Ensuite elle est retirée, lavée dans l'eau, puis ouverte et étalée sur une lame de verre, la face interne du poumon étant dirigée en haut. Après coloration au picrocarminate, ou mieux encore par l'hématoxyline et l'éosine, une lamelle est placée sur la membrane, et la préparation est conservée dans la glycérine.

Les réseaux capillaires peuvent encore être étudiés après injection d'une masse gélatineuse incolore; mais les plus belles préparations sont celles que l'on obtient par des injections de masses colorées transparentes, surtout quand elles sont additionnées de gélatine. Pour la composition de ces masses et les procédés à l'aide desquels on les fait pénétrer, nous renvoyons à ce que nous en avons dit dans les Méthodes générales (voy. p. 100).

Tous les histologistes possèdent un certain nombre de ces préparations qui, outre leur utilité pour l'étude et les démonstrations, ont l'avantage de se conserver admirablement, surtout quand elles sont montées dans le baume du Canada et maintenues à l'abri de la lumière.

Lorsque l'on se propose moins la beauté de ces préparations que leur utilité, de toutes les masses que l'on emploie, la meilleure, la plus facile à préparer, est celle au bleu de Prusse et à la gélatine (voy. p. 106), et, nous le répétons, le meilleur de tous les appareils pour la faire pénétrer est une seringue bien construite et dont le jeu est vérifié avant l'opération. Si alors on a déterminé la quantité de masse nécessaire pour injecter un animal entier (lapin, cochon d'Inde, etc.) en la poussant avec quelque ménagement par le bout central de la carotide, l'opération sera généralement couronnée de succès; tous les organes, sauf le poumon, seront convenablement injectés.

Avant d'ouvrir l'animal, il faut attendre que la masse qui a pénétré dans les vaisseaux soit complètement refroidie, ce qui nécessite toujours plusieurs

heures en hiver et l'emploi de la glace en été. Les organes sont alors enlevés avec précaution et déposés immédiatement dans le liquide de Müller ou dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. La coloration bleue devient plus intense, elle apparaît même dans des régions qui au début étaient incolores et semblaient mal injectées. Les parties membraneuses, telles que le grand épiploon, le mésentère, le centre phrénique, etc., après avoir séjourné pendant quelques heures dans la solution de bichromate, ou mieux encore dans une solution saturée d'acide picrique, seront lavées, étendues sur une lame de verre, colorées au picrocarminate et montées en préparation dans la glycérine. Les autres organes resteront dans le liquide de Müller jusqu'à complet durcissement, ou bien le durcissement sera achevé par l'action de l'alcool ou de la gomme et de l'alcool. Pour la coloration des coupes, la purpurine (voy. p. 95) est à recommander, à cause de son élection remarquable sur les noyaux et parce que, contrairement au carmin, elle exerce son action colorante même après un séjour prolongé des pièces dans les solutions chromiques.



Fig. 225. — Coupe transversale de la peau de la région palmaire du doigt indicateur de l'homme. — Injection par une des artères collatérales du doigt, l'autre étant liée, avec une masse de carmin et de gélatine. Durcissement dans l'alcool. — Préparation montée dans le baume du Canada. — C, épiderme; P, papilles; D, derme; *s*, canal de glande sudoripare; *v*, vaisseaux des papilles; *vs*, réseau capillaire d'un glomérule de glande sudoripare. — 45 diamètres.

La disposition d'un réseau capillaire, c'est-à-dire la forme et le diamètre des mailles de ce réseau et quelquefois la forme et le diamètre des capillaires eux-mêmes, est en général caractéristique pour un organe ou un tissu déterminé. Il en résulte que, le plus souvent, à la simple inspection d'un réseau capillaire, on peut dire à quel tissu ou à quel organe il appartient.

Nous avons déjà vu que dans les muscles, qui sont composés de faisceaux

parallèles, le réseau capillaire est formé de mailles quadrangulaires et allongées dans le sens de la direction des faisceaux (voy. p. 598). Nous avons vu également que les muscles rouges du lapin, bien que possédant des faisceaux musculaires striés comme les muscles pâles, renferment un réseau capillaire dont les vaisseaux sont larges, sinueux et dilatés par places en forme d'ampoules (fig. 189). Faisons remarquer ici que cette disposition du réseau capillaire, considérée dans son ensemble et dans ses détails, tout en restant subordonnée à la forme des éléments, est en rapport avec une fonction physiologique spéciale.



Fig. 224. — Grand épiploon du lapin jeune adulte. Injection de tout le système vasculaire. Coloration au picrocarminate. *l*, tache laiteuse non vasculaire; *l'*, tache laiteuse vasculaire; *a*, artère; *v*, veine. — 17 diam.

Des considérations semblables peuvent être présentées à propos d'un certain nombre d'organes. Dans le poumon, par exemple, où le système capillaire a une importance très grande en raison des échanges de gaz qui doivent se produire entre la masse du sang et l'air atmosphérique, les vaisseaux capillaires, dont le nombre est considérable, font dans l'intérieur des alvéoles un relief bien marqué lorsqu'ils sont remplis par le sang ou par une masse d'injection. Cette dernière disposition est destinée à augmenter la surface vasculaire qui se trouve en rapport avec les gaz contenus dans les alvéoles du poumon, et par suite elle favorise l'hématose. Ici, comme dans les muscles rouges du lapin, la forme du réseau est en relation avec la fonction spéciale de l'organe.

En général, la richesse du réseau capillaire d'un organe est en rapport avec son activité fonctionnelle. Cette richesse est plus grande dans les parties du système nerveux qui contiennent des cellules (substance grise) que dans

celles qui sont formées de tubes (substance blanche des centres nerveux, nerfs périphériques), dans les fibres musculaires striées que dans les fibres musculaires lisses, etc. Le nombre des capillaires est relativement considérable dans toutes les glandes, il est faible dans les os, insignifiant dans le tissu fibreux des tendons et des ligaments; enfin, ces vaisseaux manquent dans les cartilages permanents et dans la cornée.

Pour acquérir des notions un peu complètes sur un réseau capillaire, il n'y a pas de préparation qui vaille une portion transparente et vasculaire d'un animal vivant étendue sur le champ du microscope et dans laquelle la circulation suit son cours, parce que les artères et les veines s'y trouvent nettement indiquées par le sens dans lequel la circulation se produit. Dans les artères, elle se fait des grosses branches vers les petites; et inversement, dans les veines, des petites branches vers les grosses (voy. l'art. suivant).

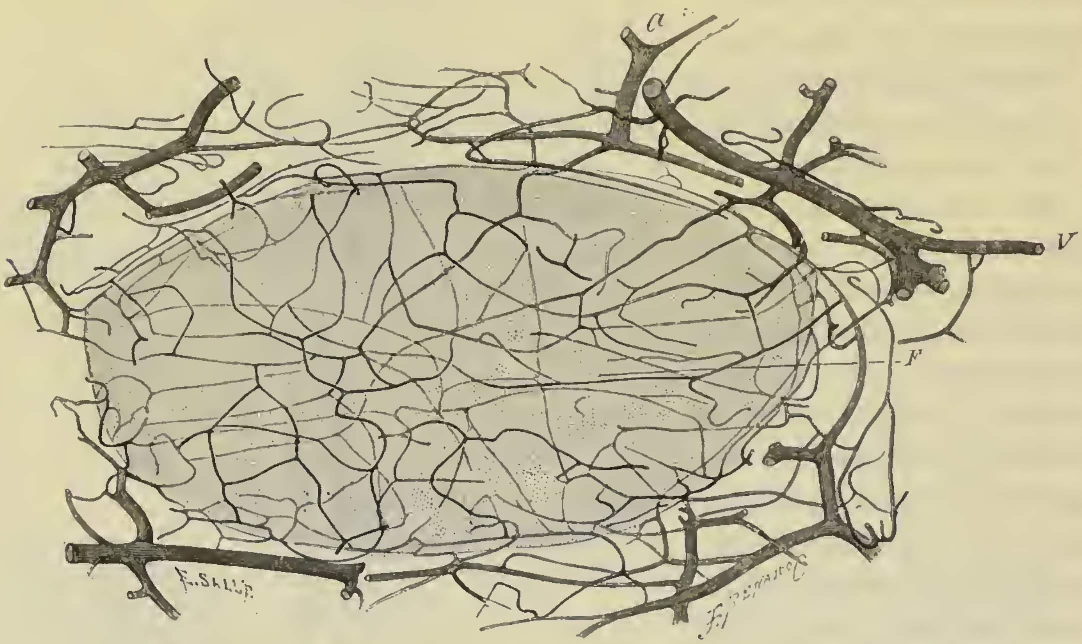


Fig. 225. Follicule lymphatique de l'appendice iléocæcal du lapin. — Coupe parallèle à la surface, après injection avec une masse de bleu de Prusse et de gélatine. — *a*, artère; F, réseau capillaire du follicule. — 80 diamètres.

Dans le même but, conviennent aussi toutes les portions membraneuses qui, après injection de leurs vaisseaux, sont assez transparentes pour être examinées à plat : le poumon et la vessie de la grenouille, la vessie du cochon d'Inde, du lapin et du rat, l'intestin grêle des mêmes animaux, le centre phrénique du lapin, le mésentère et le grand épiploon du même animal, etc.

Prenons par exemple le grand épiploon du lapin. Après injection de l'animal entier avec une masse gélatineuse au bleu de Prusse, lorsque celle-ci est prise par le refroidissement, la cavité abdominale est ouverte ; le grand épiploon se présente au-dessous de l'estomac comme une dentelle bleu repliée sur elle-même. On le saisit délicatement avec les doigts ou avec une pince, et on l'excise à sa base pour le placer dans le liquide de Müller ou dans une solution saturée d'acide picrique. Lorsqu'il y a séjourné une heure ou deux, il est porté dans un baquet de verre rempli d'eau distillée, et, en l'agitant au

sein du liquide avec une aiguille, on arrive à le déplisser. Il est facile alors de séparer avec des ciseaux les portions qui paraissent les plus convenables pour l'examen : on glisse au-dessous d'elles dans l'eau une lame de verre porte-objet, sur laquelle elles doivent demeurer étendues pendant que l'on retire la lame de l'eau. L'extension de la membrane doit être complétée avec beaucoup de ménagement pour ne pas briser la masse à injection qui remplit les vaisseaux sanguins. L'opération se termine par l'addition du picrocarminate et de la lamelle, puis, lorsque la coloration est produite, par la substitution de la glycérine au picrocarminate.

Le grand épiploon de lapin adulte, ainsi préparé, étudié à un faible grossissement, montre des artérioles, des veinules et un réseau capillaire. Les artérioles ont toujours un diamètre inférieur à celui des veinules correspondantes, et de plus elles présentent dans leur paroi une couche continue de cellules musculaires à direction transversale, tandis que dans les veinules ces éléments sont disséminés. Les vaisseaux capillaires se trouvent surtout dans les taches laiteuses vasculaires (voy. p. 505) et y constituent un élégant réseau en forme de bouquet, semblable à celui des follicules lymphatiques (fig. 224 et 225).

Pour donner naissance au réseau capillaire, les artérioles se divisent, se subdivisent et aboutissent à des ramifications terminales qui se continuent à plein calibre avec les capillaires du réseau, de sorte que ce dernier semble être une émanation directe des artérioles. Du côté des veines, il en est tout autrement, et entre celles-ci et les capillaires qui s'y rendent il y a toujours une limite tranchée. Au point où un capillaire débouche dans une veinule, celle-ci présente d'habitude une légère dilatation ou plutôt, la veinule conservant son calibre jusqu'à son extrémité, le capillaire vient s'y ouvrir de telle sorte qu'en ce point il y a entre les deux vaisseaux une différence notable de diamètre, comme dans ces appareils en verre soufflé où un tube est soudé par son extrémité à un autre tube beaucoup plus large.

Du reste, le réseau capillaire d'une tache laiteuse vasculaire du grand épiploon du lapin présente très fréquemment des vaisseaux terminés en cul-de-sac, qui doivent être considérés comme des bourgeons creux qui n'ont pu atteindre ni un capillaire voisin pour former une maille complète, ni une veinule pour y conduire le sang.

Nous aurons, un peu plus loin, à propos du développement des vaisseaux sanguins, à revenir sur cette observation. Elle doit conduire les histologistes qui s'occuperont du réseau capillaire à rechercher si dans les autres organes il n'y pas, comme il est très probable, entre les différents ordres de vaisseaux, des rapports semblables à ceux que nous avons signalés[1].

Depuis la publication de la première édition de cet ouvrage où se trouve le passage que l'on vient de lire, j'ai trouvé la même disposition vasculaire dans nombre d'organes, dans les papilles de la peau de l'homme, dans les ganglions sympathiques, dans le foie, etc. Nos prévisions se sont donc réalisées.

Il reste encore une question importante à propos des réseaux capillaires :

1. Du développement et de l'accroissement des vaisseaux sanguins (*Arch. de physiologie*, 1874, p. 429).

c'est celle du diamètre des vaisseaux qui les constituent dans les différents organes. On ne peut fournir à ce sujet que des données très générales ; d'abord, toutes choses égales d'ailleurs, les capillaires ont chez les divers animaux un diamètre d'autant plus considérable que leurs globules du sang sont plus gros, ainsi que Leydig[1] le fait remarquer à propos du protée. Chez les mammifères, les capillaires des centres nerveux et de la rétine sont plus étroits que ceux des muscles et surtout que ceux du poumon et des différentes glandes.

A ce propos, il convient de faire remarquer qu'il est fort difficile de déterminer exactement le diamètre des vaisseaux capillaires d'un organe, parce que, quelle que soit la méthode employée, ce diamètre sera variable. Il variera d'un moment à l'autre si l'étude est faite sur des parties vivantes, la circulation se continuant. Il sera bien plus variable encore dans les pièces injectées, suivant la richesse en gélatine de la masse, suivant les réactifs qui auront été employés pour préparer la pièce et suivant le mode d'action de ces réactifs. Ainsi, le moule de matière colorée qui représente un capillaire éprouvera, sous l'influence de l'alcool, un retrait plus considérable si ce liquide a été employé tout d'un coup à l'état absolu que si on l'a fait agir graduellement, et ce retrait sera plus grand encore si, après avoir sorti la préparation de l'alcool absolu pour l'éclaircir avec de l'essence, elle a été desséchée. Une dessiccation complète rétracte même tellement le moule de gélatine que, si l'injection a été faite au bleu de Prusse et la préparation colorée au carmin, on ne voit plus au milieu du capillaire qu'un simple filament bleu, tandis que le calibre du vaisseau, notablement plus large, est indiqué par la coupe optique de sa paroi contenant des noyaux colorés en rouge.

Il résulte de tout cela qu'un organe injecté fournira des capillaires dont le volume sera variable suivant les procédés qui auront été suivis, et que, pour déterminer le diamètre relatif de ces vaisseaux dans deux organes différents, il est nécessaire d'avoir employé pour l'un et pour l'autre exactement les mêmes méthodes, ce qui, d'après ce que nous venons de dire, n'est pas facile à réaliser. Dès lors il ne faut tenir compte que de différences très accusées.

Circulation capillaire. — L'observation de la circulation capillaire a été d'une très grande importance, parce que, à partir du moment où l'on a vu le sang passer des artères dans les veines par l'intermédiaire du réseau capillaire, la circulation a été définitivement démontrée. C'est à Malpighi[2] que revient l'honneur d'avoir fait la première observation de ce genre et en même temps la découverte du réseau capillaire. Ayant incisé la paroi abdominale d'une grenouille, il vit les poumons se gonfler et faire hernie au dehors. Examinant alors leur surface avec une loupe, il put distinguer les artères et les veines, et reconnaître dans leur intérieur un courant sanguin s'éloignant du cœur par les artères et y retournant par les veines. Il supposait d'abord qu'entre les deux ordres de vaisseaux se trouvait une cavité remplie

1. *Leydig*. Traité d'histologie de l'homme et des animaux. *Éd. franç.*, p. 475.
2. *Malpighi*, Opera omnia. Epistola II de pulmonibus

de sang ; mais, après avoir lié le poumon à sa base et l'avoir fait sécher, il put l'examiner par transparence, à la loupe et au microscope, et reconnaître qu'entre les artères et les veines il existait un réseau formé par des canaux extrêmement fins, remplis de globules du sang.

La manière dont Malpighi a procédé pour faire cette découverte importante mérite de nous intéresser. En effet, étant donnés les instruments d'optique dont il pouvait disposer, il lui était difficile, peut-être même impossible, d'arriver, par une observation isolée, à constater la circulation capillaire. En complétant son observation physiologique par l'observation anatomique de ce que nous appellerions aujourd'hui une injection naturelle, il a tourné la difficulté et a fait œuvre d'expérimentateur.

Au siècle dernier, l'observation de la circulation capillaire dans des parties transparentes d'animaux vivants intéressait vivement les physiologistes et même les curieux de la nature. Cependant Bichat [1], d'après ce qu'il dit dans son traité d'*Anatomie générale*, ne semble pas avoir vu lui-même la circulation capillaire ; il s'en rapporte sur ce point à Haller et à Spallanzani. Il est probable qu'il n'avait pas à sa disposition d'instruments suffisants. Aujourd'hui il n'est peut-être pas un médecin qui n'ait observé plusieurs fois la circulation dans des parties vivantes.

Les animaux sur lesquels on se propose d'étudier au microscope la circulation capillaire doivent être immobilisés, soit par des procédés mécaniques, soit au moyen du curare (voy. p. 47). L'observation peut être faite sur des parties extérieures transparentes, sans qu'il soit besoin de faire subir à l'animal aucune mutilation, par exemple sur la membrane interdigitale et la langue de la grenouille, la queue de petits poissons, l'expansion membraneuse de la queue des tritons (palmés et ponctués) et celle de la queue des têtards. On peut aussi, après avoir pratiqué une incision, amener au dehors une partie transparente interne, telle que le poumon, le mésentère et la vessie de la grenouille, le mésentère de petits mammifères, et, à l'exemple de Poiseuille, la vessie de rats nouveau-nés.

Pour immobiliser sur le porte-objet du microscope les embryons de poissons, il suffit de les envelopper de papier à filtrer imbibé d'eau en laissant la queue à découvert. Dans ces conditions, leur vie a une durée suffisante pour qu'il soit possible de continuer l'observation pendant plusieurs heures. On emploiera le même procédé pour observer au microscope la circulation dans la queue des têtards, mais il est préférable de les curariser d'abord. Quand on place un de ces petits animaux dans une solution de curare à 1 pour 1000, à 1 pour 100, ou même encore plus concentrée, il continue d'y vivre et de s'y agiter comme s'il était dans l'eau pure. Mais si en un point quelconque de son corps on fait une piqûre avec une aiguille, il ne tarde pas à subir les effets de la curarisation [2]. Il faut alors le retirer du milieu toxique et le

1. *Bichat*, Anatomie générale, 1812. T. II, p. 515.

2. Pour s'assurer que la pénétration du curare se fait seulement après une solution de continuité de la peau, on peut faire l'expérience suivante : Deux têtards de grenouille rousse (*R. temporaria*) sont placés dans quelques centimètres cubes d'eau. On fait à l'un d'eux une légère piqûre, l'autre est laissé intact. Ces deux têtards continuent de vivre et

plonger dans l'eau ; il est mis ensuite sur une lame de verre pour être examiné.

Un des plus beaux objets d'étude pour la circulation capillaire est à coup sûr le poumon de la grenouille, sur lequel, comme nous l'avons vu, Malpighi a fait les premières observations de ce genre.

Ces observations présentent certaines difficultés. Lorsque, après avoir pratiqué une incision à la paroi viscérale, le poumon a fait saillie à l'extérieur, la grenouille le gonfle par de nouveaux efforts de déglutition, ou bien

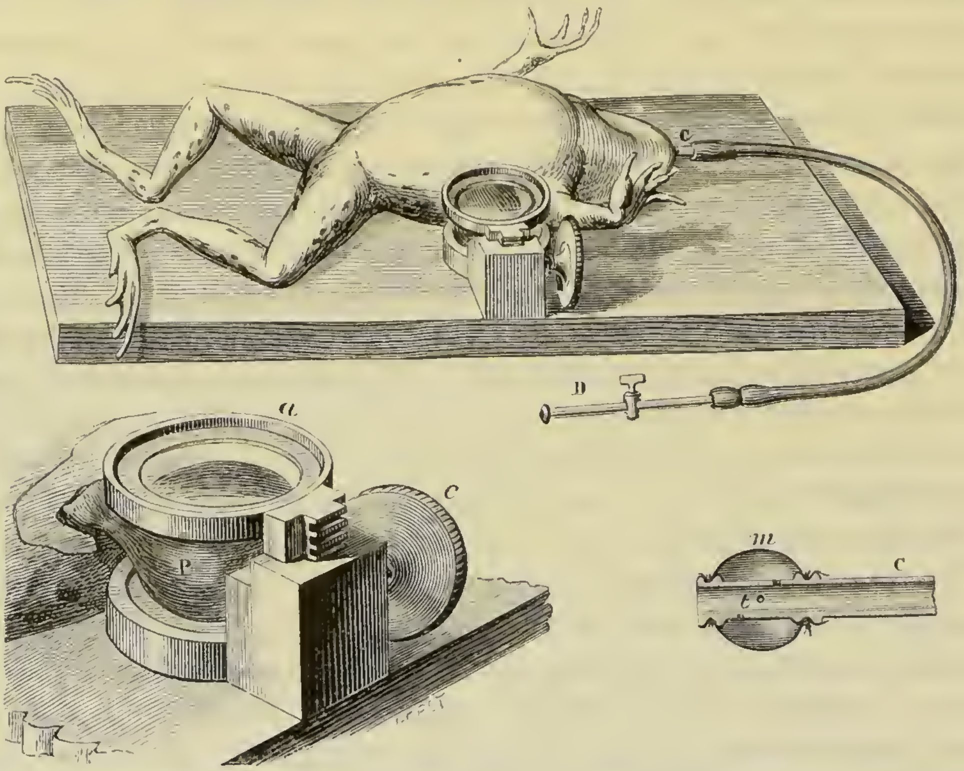


Fig. 226. — Appareil de Holmgren pour l'observation de la circulation dans le poumon de la grenouille. — *c*, canule introduite dans la glotte; *m*. membrane distendue pour obtenir l'obturation au moment de l'insufflation; D, canule à robinet; *a*, anneau de laiton portant une lamelle de verre que l'on peut abaisser sur le poumon P, en se servant de la crémaillère *c*.

au contraire elle le laisse se vider complètement. C'est là une première difficulté, car il importe, pour qu'on puisse l'étudier au microscope, que cet organe soit convenablement gonflé. Si par hasard il se montre à cet état, il faut, la grenouille étant placée sur une lame de liège percée d'un trou exactement au-dessous du sac pulmonaire faisant saillie, la porter sur la platine du microscope, et alors se présente une seconde difficulté. La surface du poumon étant convexe, on ne peut la recouvrir d'une lamelle de verre et l'examiner à un fort grossissement. De plus, en raison de la convexité de la membrane sur laquelle doit porter l'examen, on n'en voit distinctement à la

de nager et ne pourraient être distingués l'un de l'autre, n'étaient quelques différences que l'on a notées, des différences de taille, par exemple. Si l'on ajoute alors quelques gouttes d'une solution de curare au centième, celui des deux têtards dont le tégument a été intéressé subit bientôt les effets de la curarisation, tandis que l'autre a conservé tous ses mouvements. Cette expérience et celle qui est consignée dans le texte courant montrent que les histologistes qui ont curarisé des têtards simplement en les plongeant dans la solution toxique les avaient traités auparavant sans beaucoup de ménagements.

fois que des zones très limitées. Dès lors, le réseau capillaire dans son ensemble échappe à l'observateur.

Holmgren[1] est arrivé, à l'aide d'un appareil très ingénieux, à surmonter toutes ces difficultés et à régler dans tous ses détails l'étude de la circulation capillaire du poumon. Il commence par immobiliser la grenouille par l'injection sous-cutanée d'une certaine quantité de curare qui doit être suffisante pour paralyser l'animal pendant deux ou trois jours. (Nous avons vu, p. 47, qu'il suffit d'une à deux gouttes d'une solution au millième d'un curare de bonne qualité.)

Pour régler l'état de réplétion du poumon, il introduit dans la glotte une canule adaptée à un tube en caoutchouc dont l'autre extrémité porte une embouchure à robinet. En soufflant par cette embouchure, on distend à son gré les sacs pulmonaires et on maintient la distension en fermant le robinet. Mais, pour que l'air ne ressorte pas entre les lèvres de la glotte et la canule, cette dernière présente une disposition spéciale; son extrémité est entourée d'un manchon membraneux susceptible de se distendre plus ou moins et de compléter l'occlusion en se moulant sur les parois de la glotte.

A cet effet, la canule est munie de deux rainures circulaires (*m*, 226) entre lesquelles se trouve une gorge de 4 millimètres de longueur environ. Le fond de cette gorge communique avec le calibre de la canule par trois trous latéraux. La membrane dont on se sert est le gros intestin d'une grenouille, qui, après avoir été excisé et vidé, est passé comme un manchon sur l'extrémité de la canule et attiré jusqu'à ce qu'il ait dépassé la seconde rainure circulaire. Il est alors lié au moyen d'un fil fin sur les deux rainures; il faut avoir soin de laisser entre les deux ligatures une longueur de membrane plus grande que la distance entre les deux rainures. La partie d'intestin qui dépasse est retranchée.

On conçoit facilement que, la canule étant placée dans la glotte, la membrane en forme de manchon, recevant l'air par les trous latéraux, se gonflera lorsque l'on fera l'insufflation et obturera suffisamment la glotte pour maintenir la distension du poumon pendant l'observation.

La canule étant introduite et fixée au moyen d'un fil à la symphyse du maxillaire inférieur, on pratique au niveau de l'aisselle une incision d'une étendue d'un centimètre et demi en moyenne, qui doit pénétrer jusqu'à la cavité viscérale sans intéresser les veines latérales de l'abdomen[2]. L'insufflation suffit pour faire sortir à travers les lèvres de la plaie le poumon correspondant. La grenouille est alors disposée sur un porte-objet spécial où le poumon, placé au-dessus d'un trou muni d'une plaque de verre, est recouvert d'une lamelle mince, maintenue horizontalement dans un anneau de laiton que l'on peut élever ou abaisser à volonté au moyen d'une crémaillère (*a* et *c*, fig. 226).

1. *Holmgren*, Methode zur Beobachtung des Kreislaufes in der Froschlunge. — *Beiträge zur Anatomie u. Physiologie als Festgabe Karl Ludwig von seinen Schuelern gewidmet.* Leipzig, 1874.

2. Pour éviter les hémorrhagies, nous conseillons de faire cette ouverture avec une petite baguette de fer chauffée au rouge, en employant les précautions que tout anatomiste comprendra.

Cette lamelle, appliquée sur le poumon, le déprime et transforme une partie de sa surface convexe en une surface plane. Dès lors elle en permet l'observation régulière, même avec de forts objectifs.

En réglant l'insufflation, on peut faire varier la rapidité de la circulation, et même l'arrêter à volonté par un gonflement un peu considérable. Nous reviendrons, dans le courant de la description de la circulation capillaire, sur quelques-uns des faits que l'on observe à l'aide de cette ingénieuse méthode.

C'est dans le mésentère de la grenouille, attiré au dehors après avoir pratiqué une incision à la paroi abdominale, que Poiseuille[1] a fait la plupart de ses observations intéressantes sur la circulation dans les petits vaisseaux. Aujourd'hui l'expérience est devenue beaucoup plus facile, grâce à la curarisation. Comme, dans ces dernières années, surtout depuis le travail de

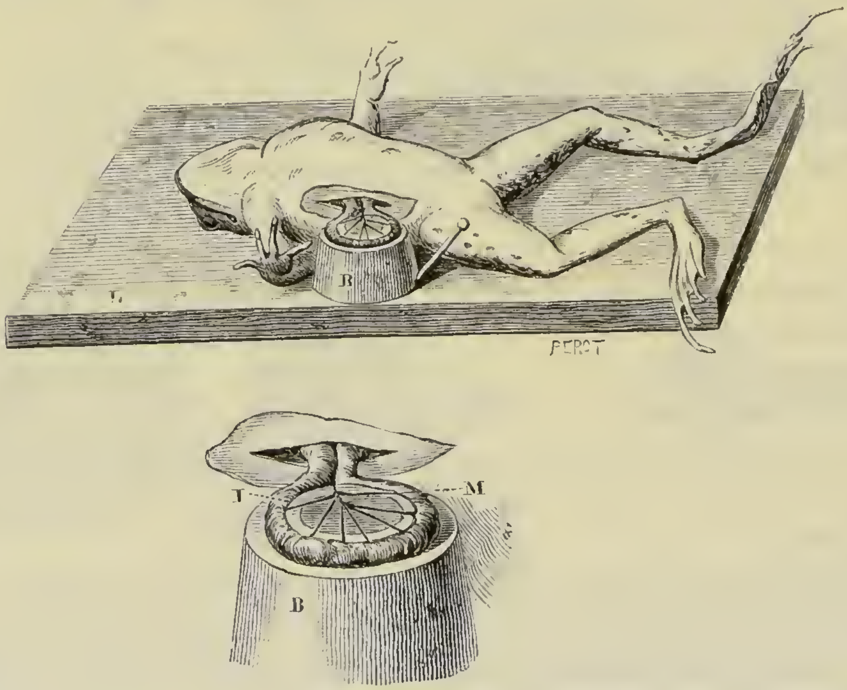


Fig. 227. — Porte-objet pour l'observation du mésentère de la grenouille à l'état vivant. L, lame de liège; B, disque de liège; I, intestin; M, mésentère.

Cohnheim[2] sur l'inflammation et la suppuration, on s'est beaucoup occupé des phénomènes qui se passent dans le mésentère de la grenouille vivante, nous devons donner ici, et d'une manière complète, les détails de l'expérience telle que nous la pratiquons :

Il faut d'abord préparer un porte-objet convenable (fig. 227). Celui-ci est formé d'une lame de liège mince qui doit être fixée sur la platine du microscope au moyen des valets et présenter une ouverture circulaire au niveau du trou de la platine.

Si on laissait les choses dans cet état, lorsque la grenouille est étendue

1. *Poiseuille*, Recherches sur les causes du mouvement du sang dans les petits vaisseaux, 1835. *Mémoires présentés à l'Académie des sciences par divers savants*. T. VIII, 1841, p. 105.

2. *Cohnheim*. Ueber Entzündung u. Eiterung. *Arch. de Virchow*. T XL, 1867, p. 1.

sur la lame de liège et que son mésentère tiré au dehors est appliqué sur l'ouverture de cette lame, il arriverait que, la partie examinée occupant un niveau inférieur à celui de la plaie, le sang et la lymphe péritonéale en recouvriraient la surface et gêneraient l'observation. Il convient donc d'élever cette partie, de telle sorte qu'elle soit située un peu plus haut que la plaie. Pour cela, on dispose au-dessus de l'ouverture de la lame de liège un disque également en liège coupé dans un bouchon et dont la hauteur devra varier un peu suivant la grosseur de la grenouille. Ce disque (B, fig. 227) est percé suivant son axe, afin que le mésentère puisse être éclairé convenablement par les rayons réfléchis à la surface du miroir. Pour fixer le disque sur le porte-objet, il suffit de l'y réunir par quelques épingles.

La grenouille sur laquelle on doit expérimenter[1] est paralysée par l'injection sous-cutanée d'une ou deux gouttes d'une solution de curare au millième. Lorsque l'immobilité est complète, une incision longitudinale d'un centimètre est pratiquée à la partie moyenne de l'une des faces latérales de l'abdomen, en ayant soin de ne pas ouvrir la grosse veine latérale. (Nous conseillons encore ici, afin d'éviter l'hémorrhagie, d'employer le fer rouge pour faire cette incision.) Au moyen d'une pince, on retire délicatement l'intestin grêle et on l'amène sur les bords du disque de liège du porte-objet.

Pour assurer la fixité de l'intestin et du mésentère, ce disque présente une disposition spéciale, dont les détails ont été représentés dans la figure 227. La moulure saillante sur laquelle repose le mésentère et tout autour de laquelle se dispose l'intestin empêche tout déplacement, sans que pour cela la moindre pression soit exercée.

A un grossissement de 100 diamètres environ, on voit les troncs artériels et veineux à direction rectiligne qui forment les rayons vasculaires du mésentère, et entre eux, dans les portions les plus minces de la membrane, se montre le réseau capillaire. La circulation se fait d'une manière différente dans ces diverses espèces de vaisseaux. Dans les artérioles, le courant sanguin, s'éloignant du cœur, va des grosses branches vers les petites; il est continu, mais les pulsations cardiaques s'y font sentir encore, et chacune d'elles y produit une accélération. Dans les capillaires et dans les veines, le cours du sang est continu, mais tandis que dans les veines il est régulier et se fait toujours des petites branches vers les grosses branches, il présente dans le réseau capillaire des irrégularités de différentes sortes.

Chez les animaux complètement curarisés, dont le cœur a conservé toute sa force, la circulation (dans le poumon étudié avec l'appareil de Holmgren, ou dans le mésentère disposé comme nous venons de le dire) est tellement rapide, que l'on ne distingue aucun des globules compris dans le torrent circulatoire. Sur le bord des vaisseaux seulement, quelques globules rouges et un nombre plus considérable de globules blancs (cellules lymphatiques) paraissent immobiles pendant un certain temps; cependant il arrive

1. Il vaut mieux choisir pour ces expériences des grenouilles mâles, afin de n'être pas gêné par la présence des œufs. Les grenouilles mâles sont reconnaissables à la grosseur du pouce de leurs pattes antérieures.

quelquefois que tantôt l'un, tantôt l'autre de ces globules, est repris par la circulation et se confond alors avec la masse du sang.

Ce phénomène a été observé déjà par Poiseuille qui, pour l'expliquer, supposait l'existence d'une mince couche de sérum immobile ou à circulation très lente à la surface interne des vaisseaux (couche adhésive de Poiseuille). Il appuyait encore cette hypothèse sur une autre observation : lorsque la circulation est très active et que l'on ne peut distinguer dans le sang en mouvement aucun globule, ce liquide forme, au milieu de chaque vaisseau, une colonne sombre séparée de la paroi par un liséré plus clair. Ce liséré plus clair correspondrait à la couche de sérum immobile.

Comme nous le dirons un peu plus loin, les globules qui se trouvent dans la prétendue couche adhésive de Poiseuille sont immobiles, non pas parce qu'ils se trouvent dans une couche de sérum sans mouvement, mais parce qu'ils adhèrent eux-mêmes à la surface interne du vaisseau. Quant au liséré clair, il doit être expliqué, selon nous, non par l'existence d'une couche adhésive de sérum, mais par la forme même des globules sanguins. Ceux-ci, en effet, se trouvant en rapport avec la paroi du vaisseau par une surface convexe, forment par leur réunion un bord dentelé et, étant donnée la vitesse qui les anime, doivent produire sur la rétine de l'observateur l'image d'une bande continue plus claire et moins colorée que le centre du vaisseau.

Lorsque la circulation est ralentie, ce que l'on réalise à volonté au moyen de l'appareil de Holmgren, et ce qui a lieu accidentellement dans certaines régions du mésentère, les globules rouges et les globules blancs deviennent distincts; on les voit alors passer un à un dans les capillaires dont ils touchent directement la paroi.

Quand la circulation capillaire est rapide, ou mieux quand elle est ralentie, on observe plusieurs faits qui ont frappé les anciens observateurs, Spallanzani entre autres, et que tous les histologistes ont pu reconnaître facilement. Étant donné un réseau capillaire complet, la circulation présente, dans telle ou telle de ses branches, un ralentissement, un arrêt ou une direction inverse de celle qu'elle avait d'abord, pour reprendre ensuite son cours primitif.

Ces phénomènes dépendent en partie d'obstructions produites localement par des accumulations de globules, en partie de la contraction[1] des petits vaisseaux.

1. La contractilité des artérioles et des veinules est bien mise en évidence par certaines expériences de Poiseuille, quoiqu'il ne leur ait pas attribué cette signification. Le mésentère d'une grenouille vivante non curarisée étant convenablement disposé sur le porte-objet du microscope, il plaçait sur un des rayons vasculaires de la membrane deux petites masses de platine distantes de quelques millimètres et disposées de manière à arrêter le cours du sang dans les segments correspondants d'une artériole et d'une veinule. Il pouvait alors constater qu'au niveau de ces segments l'artériole et la veinule revenaient sur elles-mêmes de manière à diminuer leur calibre, que le retrait de l'artériole était plus considérable que celui de la veinule. Les masses de platine étant ensuite enlevées, les vaisseaux ne revenaient à leur volume primitif qu'au bout de deux heures et même plus (Poiseuille, loc. cit., p. 111).

Ce retrait des artérioles et des veinules ne doit pas être attribué seulement à l'élasticité de leurs parois, puisque la diminution de calibre ne cesse pas avec la cause qui l'a pro-

En effet, lorsque la grenouille est curarisée et que les petits vaisseaux sont paralysés, la circulation est beaucoup moins irrégulière. Pour bien juger de cette action du curare, il faut fixer d'abord l'animal sur le porte-objet et diriger l'observation sur la membrane interdigitale. On injecte seulement alors la substance toxique, puis on continue l'examen, en se servant d'un oculaire micrométrique pour déterminer le diamètre d'une artériole. Au début, lorsque l'animal montre ces phénomènes d'excitation passagers qui précèdent la paralysie, on constate un rétrécissement de l'artériole, tandis que dans le réseau capillaire correspondant la circulation se fait d'une façon irrégulière [1]. Lorsque, au contraire, l'animal est complètement paralysé, il survient une dilatation de l'artère, et, dans le réseau capillaire correspondant, la circulation est plus complète et plus régulière qu'elle ne l'est jamais chez une grenouille immobilisée par des moyens mécaniques [2].

Cela étant dit, revenons à l'étude du mésentère de la grenouille. L'animal étant complètement curarisé et l'examen étant fait dans les conditions dites plus haut, la circulation peut être observée pendant plusieurs heures et même pendant plusieurs jours. Dans les capillaires et dans les veinules, où elle est plus lente que dans les artères, on aperçoit d'une manière vague les globules rouges et les globules blancs. Ces derniers, quand ils occupent le centre du canal vasculaire et qu'ils sont pris au milieu des globules rouges, circulent avec la même vitesse; mais lorsque, se dégageant de la foule, ils arrivent au voisinage de la paroi, leur mouvement se ralentit, et si on les compare aux globules rouges, qui parfois les accompagnent, on reconnaît qu'ils ne glissent pas aussi facilement que ces derniers sur la face interne du vaisseau. Ils tournent sur eux-mêmes, en cheminant lentement le long

duite. Il y a en effet, comme cela est complètement établi aujourd'hui, dans la constitution des artérioles et des veinules, des cellules musculaires dont la contractilité une fois mise en jeu ne cède que lentement à la pression sanguine. Du reste, la contractilité des artérioles se traduit d'une manière très nette dans d'autres conditions.

En observant attentivement à l'œil nu et à contre-jour, comme Schiff l'a indiqué, les artères de l'oreille d'un lapin vivant, on les voit alternativement se rétrécir et se dilater suivant un rhythme entièrement indépendant de celui du cœur. Ces contractions des artères, que l'on a qualifiées de rhythmiques, simplement pour exprimer l'idée de rétrécissement et de dilatation alternatifs, sans que pour cela la durée du rétrécissement ou de la dilatation soit constante, peuvent être observées avec les mêmes caractères sur les artérioles de la membrane interdigitale de la grenouille non curarisée, examinées au microscope.

1. Dans son étude expérimentale sur l'inflammation et la suppuration, Cohnheim (*Ueber Entzündung u. Eiterung*. Arch. de Virchow, 1867, t. XL, p. 1) dit que le curare à dose faible n'a aucune action sur la circulation capillaire. Nous avons fait remarquer (*Manuel d'histologie pathol.*, p. 82) que cette assertion n'est nullement fondée, et qu'au début de la curarisation il y a rétrécissement des artérioles, ralentissement et irrégularité de la circulation capillaire; au contraire, les artérioles sont élargies et la circulation capillaire est complète quand l'animal est paralysé.

2. Dans ses nombreuses expériences, Poiseuille a noté un fait très intéressant. Une grenouille étant fixée au moyen d'épingles sur le porte-objet du microscope et son mésentère étant convenablement disposé pour l'observation microscopique de la circulation, chaque fois qu'en s'agitant elle tirait sur les épingles qui maintenaient le mésentère, le cœur s'arrêtait, et les artères, revenant sur elles-mêmes, diminuaient de calibre.

On voit que Poiseuille avait fait en passant, et sans y attacher l'importance qu'elle méritait, l'expérience que Goltz a faite depuis un peu différemment d'arrêter le cœur de la grenouille en lui excitant l'intestin.

de la paroi vasculaire, roulés contre elle par le fil du torrent circulatoire, comme une boule sous la main. C'est par ce mode de progression, lié à leur forme sphérique, et non par l'existence d'une couche adhésive, qu'il convient d'expliquer la lenteur de leur marche.

Lorsque les globules rouges, qui paraissent, comme nous l'avons vu, formés d'une matière molle et élastique, arrivent dans un capillaire dont le calibre est inférieur à leur diamètre, ou lorsqu'ils se pressent en grand nombre, ils se déforment de mille façons, pour reprendre leur aspect primitif dès qu'ils sont arrivés dans une région où ils peuvent nager librement.

Souvent un globule rouge, arrivant à la bifurcation de deux capillaires, au lieu de s'engager dans l'un ou dans l'autre, est maintenu en équilibre sur l'éperon qui les sépare, et prend la forme d'un bissac, sous l'influence du torrent circulatoire qui l'a poussé et le maintient, par suite de son égale intensité dans les deux branches. Il reste dans cette position et s'y agite jusqu'à ce qu'il en soit chassé par le choc d'un autre globule ou par un changement dans la vitesse relative du sang dans les deux branches capillaires; il revient immédiatement alors à sa configuration normale.

Dans les expériences faites au moyen du petit appareil de Holmgren, ce phénomène se reproduit en beaucoup de points, ce qui tient au grand nombre d'éperons qui se présentent et à la circulation régulière et rapide dans toutes les parties du poumon. L'observateur en sera d'autant plus frappé que, par suite de la vitesse de la circulation, les globules ainsi maintenus immobiles sont les seuls que l'on puisse distinguer.

Les globules blancs subissent aussi des changements de forme qui ne sont pas passifs, mais qui dépendent toujours de leur activité amiboïde Quand ils sont compris dans le torrent, ils sont généralement sphériques, et comme, chez la grenouille, ils sont plus petits que les rouges, ils n'éprouvent pas de difficulté à circuler en raison de leur diamètre. Mais, dès qu'ils rencontrent une surface, leur irritabilité est mise en jeu. Cette irritabilité ne se manifeste que dans les points où ils sont en contact avec la membrane des vaisseaux; elle se traduit par des phénomènes particuliers qui s'accusent de plus en plus à mesure que l'expérience se prolonge, c'est-à-dire que le mésentère est exposé au contact de l'air depuis un temps plus long.

L'observation étant portée sur les bords du vaisseau, on reconnaît le long de ces bords un nombre plus ou moins considérable de globules blancs immobiles, comme Poiseuille l'a signalé. Ces globules ont une réfringence élevée qui les fait distinguer au milieu de tous les autres éléments de la membrane et une forme particulière bien marquée, surtout lorsqu'ils sont situés exactement sur la coupe optique de la paroi vasculaire et que la circulation possède une certaine vitesse.

Ils sont fixés à la membrane du vaisseau, tandis que le torrent sanguin tend à les entraîner et les refoule contre la paroi, comme il arrive pour ces bateaux qui, retenus au rivage par une amarre, se disposent au fil de l'eau le long de la berge de la rivière. Parfois, la force du courant sanguin

détache quelques-uns de ces globules, et lorsqu'ils sont devenus libres on les reconnaît au milieu de la masse du sang à leur forme caractéristique qui rappelle celle d'une grenade. En un point de leur surface, qui dans le reste de son étendue est régulièrement arrondie, s'élèvent des crêtes et des piquants qui ont été formés par l'activité amiboïde de l'élément au niveau de son point d'attache à la surface interne du vaisseau. Ces petits prolongements amiboïdes limités reviennent bientôt sur eux-mêmes, et le globule reprend sa forme régulière.

Mais tous les globules blancs qui se sont fixés au vaisseau ne rentrent pas, après un temps plus ou moins long, dans le courant du sang. La plupart d'entre eux, aussi bien dans les capillaires que dans les veinules, s'insinuent dans les tuniques vasculaires et finissent par les traverser, pour s'engager dans les mailles du tissu conjonctif, dans une gaine lymphatique, ou se mettre en liberté à la surface de la séreuse.

Lorsque la migration des globules blancs à travers la membrane des capillaires est en pleine activité, environ deux heures après le début de l'expérience, on rencontre des veinules et des capillaires dont la face interne est garnie d'un si grand nombre de globules blancs adhérents qu'il est possible d'en voir au même moment aux différentes phases de la diapédèse. En portant son attention sur la coupe optique du vaisseau, on y trouvera, faisant saillie à l'intérieur, une série de globules de dimensions différentes : les uns, reliés par un faible pédicule, montrent la disposition piriforme sur laquelle nous avons insisté plus haut ; d'autres, au contraire, se sont fixés à la paroi par une large surface, et quelques-uns d'entre eux y figurent une demi-sphère. Ce sont ces derniers que l'on devra surtout examiner, si l'on veut suivre pas à pas tous les détails de la migration à travers les tuniques des vaisseaux. La partie qui fait saillie dans l'intérieur, tout en conservant toujours sa forme arrondie, diminue progressivement de volume jusqu'à ne plus apparaître à l'œil de l'observateur que comme un point brillant. Puis ce point disparaît à son tour.

L'observation du phénomène dont nous venons de tracer les principales phases est facile : elle peut se faire même à un grossissement de 150 diamètres, si le système de lentilles est bon. Il est plus difficile de suivre ce qui se passe dans l'épaisseur de la paroi du vaisseau et en dehors de celle-ci, pendant que les globules blancs la traversent. Lorsque la portion d'un de ces globules située encore en dedans du vaisseau diminue progressivement, on voit apparaître en dehors et augmenter à mesure, dans la région correspondante, une masse irrégulière munie de prolongements qui se répandent de la façon la plus variée, tantôt à la surface externe de la membrane vasculaire, tantôt dans les mailles du tissu conjonctif voisin. On reconnaît ainsi que, tandis que la portion intravasculaire du globule blanc est régulière, sphérique ou hémisphérique, la portion extra-vasculaire a une forme amiboïde. Cette différence si marquée entre les deux portions d'un même élément qui, dans le sang en mouvement, paraît homogène et régulier, est certainement une des raisons pour lesquelles

le processus de la diapédèse a échappé à un grand nombre d'observateurs.

A l'exemple de Cohnheim, on peut rendre cette observation beaucoup plus facile en déterminant dans les cellules lymphatiques du sang la pénétration de particules colorées qui permettent de les reconnaître et de les suivre.

A cet effet, on fait usage de diverses poudres colorées insolubles dans l'eau et impalpables, telles que le vermillon, la sépia, le carmin, etc. (voy. p. 54); mais il faut employer de préférence le bleu d'aniline, que l'on obtient de la façon suivante : dans un tube à analyse rempli au tiers d'alcool on ajoute de la poudre de bleu d'aniline insoluble dans l'eau; on chauffe au bain-marie, et, lorsque le bleu est complètement dissous, on filtre à chaud en recevant la liqueur colorée dans une quantité d'eau distillée qui, en volume, doit être plus du double de celle de l'alcool. Le bleu forme alors un précipité d'une finesse extrême qui reste en suspension dans la liqueur. Après le refroidissement, un centimètre cube du mélange est injecté au moyen d'une seringue hypodermique dans le sac dorsal de la grenouille curarisée et disposée pour l'observation du mésentère. Les granulations colorées sont absorbées par les cellules de la lymphe du sac dorsal, qui les emportent avec elles dans le système vasculaire et y deviennent ainsi très reconnaissables. Lorsqu'une de ces cellules, après s'être fixée à la paroi du vaisseau, la traverse pour s'échapper au dehors, elle entraîne avec elle ses granulations colorées; celles-ci, en attirant le regard de l'observateur, lui permettent de suivre l'élément dans ses migrations.

Les globules rouges n'absorbent jamais les granulations colorées; mais leur couleur et leur réfringence particulière les font facilement reconnaître lorsqu'ils passent à travers la paroi des vaisseaux.

C'est la raison pour laquelle Stricker[1] avait observé la diapédèse des globules rouges et n'avait pas reconnu celle des globules blancs, qui, à coup sûr, est beaucoup plus importante.

Lorsque le mésentère de la grenouille vient d'être étalé sur le porte-objet, ce n'est que d'une manière tout à fait exceptionnelle que l'on voit des globules rouges engagés dans la membrane des capillaires; mais, quelques heures après, on en remarque déjà un certain nombre, et au bout de vingt-quatre heures ce nombre est devenu bien plus considérable. Cette observation a conduit Cohnheim à supposer que les globules blancs passent à travers des stomates étroits préformés, dans lesquels les globules rouges ne s'engagent que lorsque ces stomates ont été agrandis par un travail actif des globules blancs.

Nous sommes, sur ce dernier point, tout à fait d'accord avec Cohnheim. Seulement, d'après ce que nous avons dit de la structure des capillaires, nous ne saurions admettre l'existence de stomates préformés pour le passage des globules blancs. Rappelant à ce propos nos observations sur la formation des trous dans le grand épiploon (voy. p. 310), nous pensons que les cellules lymphatiques, celles du sang aussi bien que celles des cavités séreuses,

1. *Stricker*, Studien ueber den Bau und das Leben der capillaren Blutgefaesse. *Comptes rendus de l'Académie des sciences de Vienne*, t. LII, cité dans le *Centralblatt*, 1866, p. 359.

après s'être fixées dans les espaces intercellulaires des endothéliums, peuvent en écarter les cellules et se frayer de nouvelles voies.

Revenons à la diapédèse des globules rouges. Son premier stade est celui qui s'observe le plus souvent : un globule s'est engagé par un de ses bords ou par une de ses faces dans un stomate dont les lèvres se sont fermées plus ou moins sur lui, de telle sorte qu'il paraît étranglé en un point, laissant une de ses portions dans l'intérieur du vaisseau, tandis que l'autre a passé au dehors. La portion interne, battue par le courant circulatoire, est appliquée contre la paroi du vaisseau ou bien présente des oscillations; elle a généralement des plis qui vont en rayonnant à partir de son point d'attache. La portion externe est immobile et forme un grain ambré, plus ou moins volumineux suivant la masse de la partie engagée.

Les choses en restent là quelquefois : dans d'autres cas, la diapédèse se poursuivant, le globule sort tout entier, ou enfin, l'ouverture dans laquelle il s'est engagé se resserrant, il est coupé en deux, et son fragment extérieur devient libre.

Tels sont les phénomènes les plus importants que l'on peut observer sur les vaisseaux du mésentère exposé au contact de l'air.

Faut-il en conclure que la diapédèse est un processus essentiellement inflammatoire et qu'elle constitue toute l'inflammation?

Ce serait une double erreur. D'abord, la diapédèse est un phénomène physiologique. On peut s'en assurer facilement en observant avec attention les vaisseaux du mésentère de la grenouille, au moment même où l'on vient d'ouvrir le ventre et d'étendre la membrane sur le porte-objet; on trouvera toujours alors en quelques points des globules blancs qui émigrent à travers la paroi des vaisseaux. On en remarque aussi dans la membrane interdigitale de la grenouille, simplement étalée dans le champ du microscope. De plus, l'accumulation des cellules lymphatiques dans le tissu conjonctif peut se produire en dehors de l'inflammation, dans l'œdème par exemple[1]. Si donc, dans l'inflammation, la diapédèse des globules blancs et des globules rouges est singulièrement accrue, on n'en doit pas moins la considérer comme une simple exagération d'un phénomène physiologique.

Il reste à déterminer quelle est la cause de cette exagération. Dans l'expérience qui consiste à exposer à l'air le mésentère, il nous est possible de la comprendre. Comme nous l'avons vu plus haut (voy. art. *Lymphe*), l'activité amiboïde d'une cellule lymphatique est d'autant plus grande qu'elle a, dans des limites déterminées, une plus grande quantité d'oxygène à sa disposition; de plus, cette activité se manifeste facilement lorsque la cellule peut se fixer et ramper sur une surface résistante. Ces conditions sont réalisées pour les globules blancs du sang des vaisseaux du mésentère quand cette membrane est exposée à l'air.

Notons d'abord que les vaisseaux, surtout après l'action du curare, montrent une dilatation généralement considérable. Dans ces conditions, le sang est rutilant, et il y a dès lors une plus grande quantité d'oxygène à la

1. Des lésions du tissu conjonctif lâche dans l'œdème. (*Comptes rendus*, 10 juillet 1871.)

disposition des globules blancs. A cette première source d'oxygène vient s'ajouter l'oxygène de l'air ambiant qui arrive aux globules à travers la membrane.

Cette dernière condition n'existe pas dans les inflammations des parties profondes, même dans celles qui siègent sous la peau, le phlegmon du tissu conjonctif sous-cutané par exemple. Mais la dilatation des vaisseaux et la présence d'une plus grande quantité d'oxygène dans le sang des réseaux capillaires et des veinules des parties enflammées sont des faits établis par l'expérience. A ce propos, il convient de rappeler les analyses qu'Estor et Saint-Pierre[1] ont faites du sang qui revient des parties enflammées et dans lequel ils ont trouvé plus d'oxygène que dans le sang veineux normal.

D'autre part, la diapédèse n'est possible qu'avec une certaine lenteur de la circulation. C'est ainsi que, dans l'expérience de Holmgren, bien que les globules blancs aient à leur disposition la grande quantité d'oxygène contenue dans le sac pulmonaire, la diapédèse ne se produit pas, à cause de la rapidité de la circulation. Quelques globules blancs se fixent bien de temps en temps sur les vaisseaux, mais ils en sont bientôt arrachés par le torrent circulatoire. Peut-être qu'en ralentissant beaucoup ce dernier, on arriverait à observer une migration plus complète, telle qu'elle existe certainement chez les mammifères dans la pneumonie.

La dilatation des vaisseaux et la diapédèse exagérée peuvent donc dépendre de l'irritation inflammatoire; mais cette irritation peut aller plus loin et porter directement sur l'activité formative d'un certain nombre d'éléments cellulaires, ainsi que Virchow l'a soutenu. Nous n'avons pas à le développer ici. Qu'il nous suffise de rappeler que dans une maladie inflammatoire bien commune, le coryza, il est facile d'observer, nageant dans l'exsudat de cette inflammation catarrhale, à côté de cellules lymphatiques, caractérisées par leurs mouvements amiboïdes et l'existence de la matière glycogène dans leur intérieur, d'autres cellules, arrondies, dont le volume ne dépasse pas celui des cellules lymphatiques, qui portent parfois des cils vibratiles, ne contiennent pas de matière glycogène, ne présentent pas de mouvements amiboïdes et qui dérivent évidemment des éléments épithéliaux de la membrane affectée.

Les conceptions anciennes de Thémizon, de Brown, de Broussais, de Virchow, sur les maladies inflammatoires ne sont donc pas renversées par les expériences de Cohnheim, et aujourd'hui on doit encore considérer l'inflammation comme une exagération des phénomènes nutritifs et formatifs. Comme cette exagération, l'inflammation a des degrés, et entre l'irritation physiologique qui est nécessaire à la vie et l'irritation inflammatoire la plus légère il est impossible d'établir la limite.

1. *Estor et de Saint-Pierre*, Recherches expérimentales sur les causes de la coloration rouge des tissus enflammés. — *Journal de l'anatomie et de la physiologie*, 1865, p. 411.

CHAPITRE XIII

DÉVELOPPEMENT DES VAISSEAUX SANGUINS

L'origine des vaisseaux sanguins chez l'embryon est encore discutée. His[1], reprenant une opinion ancienne, soutient, contre les embryologistes contemporains, que les vaisseaux ne se développent pas d'une manière banale aux dépens du feuillet moyen, mais qu'ils procèdent d'un feuillet spécial, feuillet vasculaire, qui prend naissance chez le poulet à la limite de la zone embryonnaire, et qui de là s'étend concentriquement vers l'embryon. Ce feuillet serait placé entre la lame intestinale (lame fibreuse intestinale) et le feuillet interne.

Kölliker[2] s'est élevé contre cette manière de voir et défend encore aujourd'hui l'opinion des embryologistes qui ont précédé immédiatement His dans ces recherches. C'est aux dépens du feuillet moyen et dans la portion de ce feuillet qui correspond à la lame fibreuse intestinale que, d'après lui, se formeraient les premiers éléments vasculaires. Cependant il se range, en partie du moins, à l'opinion de His, et pense, avec ce dernier auteur, que les vaisseaux sanguins se développent d'abord à la limite de la zone embryonnaire (*Keimwall*) et dans la zone opaque, puis végètent du côté de l'embryon, l'atteignent et le pénètrent de leurs bourgeons. Mais il est clair qu'aucun embryologiste n'a pu suivre ce développement continu par bourgeonnement dans le corps même de l'embryon; c'est là une simple hypothèse.

Quant à la formation des premiers éléments des vaisseaux et du sang, il règne à ce sujet la plus grande obscurité. Chez le poulet, cette étude est extrêmement difficile, et il convient de l'aborder seulement après avoir fait une observation des vaisseaux en voie de développement chez des animaux et dans des organes où il est plus facile de les suivre.

Les embryologistes ont l'habitude, au moins dans leurs descriptions, d'étudier le développement à partir de l'œuf, en examinant pas à pas les modifications qui s'y produisent lors de la formation des organes. Mais les histologistes suivront quelquefois avec beaucoup d'avantage une marche en sens inverse. Il convient qu'ils partent d'abord d'une connaissance exacte du tissu complètement développé. Ce point de départ étant établi, ils feront ensuite une étude du même tissu chez des animaux en voie de croissance et, en dernier lieu seulement, poursuivront leurs recherches chez des animaux embryonnaires.

Aussi, dans ce chapitre sur le développement des vaisseaux, nous n'exposerons la première formation du système vasculaire dans l'œuf de poule

1. *His*. Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthierleibes. Leipzig, 1868, p. 45.

2. *Kölliker*, Entwicklungsgeschichte des Menschen und der hoheren Thiere, 2e édit., 1876, p. 161.

qu'après avoir fait une étude, aussi complète que possible, de quelques organes membraneux dans lesquels les vaisseaux prennent naissance et subissent une croissance continue pendant les premières périodes de la vie extérieure.

Parmi ces membranes, il en est une qui depuis longtemps a attiré l'attention des observateurs; c'est l'expansion membraneuse de la queue des têtards.

Développement des vaisseaux dans la queue des têtards. — Kölliker[1], en 1846, crut remarquer que dans la queue des têtards les vaisseaux se développent et s'accroissent aux dépens de cellules étoilées dont les ramifications viennent se mettre en rapport avec des prolongements en pointe de la paroi des capillaires. Les cellules étoilées qui prendraient ainsi part à la formation du réseau vasculaire ne seraient autre chose que des cellules de tissu conjonctif. On croyait alors que ces cellules possèdent une membrane et présentent une cavité centrale qui se continue dans leurs prolongements. C'est en partant de cette conception que Kölliker soutenait que, pour devenir une partie du réseau capillaire, la cellule connective subit un simple élargissement de ses branches et de sa cavité. Mais aujourd'hui que l'on sait, d'une part que les cellules du tissu conjonctif sont formées simplement par une lame de protoplasma, et d'autre part que les vaisseaux capillaires ne sont pas constitués, comme on le croyait jadis, par une membrane amorphe en forme de tube, l'ancienne opinion de Kölliker n'est plus soutenable. Du reste, ses observations étaient inexactes, en ce sens que jamais on ne voit un prolongement vasculaire se mettre en rapport avec une cellule de tissu conjonctif, ainsi que Golubew[2] l'a reconnu.

Cet auteur a montré que dans l'expansion membraneuse de la queue des têtards, les vaisseaux en voie de croissance présentent, soit à leur extrémité, soit sur leurs bords, des prolongements protoplasmiques en forme de pointe, qui se mettent en rapport avec d'autres prolongements semblables venus de régions voisines et se soudent avec eux pour compléter le réseau primitif. Ces prolongements, pleins d'abord, se creuseraient peu à peu à leur centre à partir des vaisseaux capillaires perméables et se transformeraient ainsi en canaux vasculaires.

Dès lors, le développement des vaisseaux ne se ferait pas par l'addition de nouveaux éléments cellulaires, mais par la croissance de ceux qui existent déjà dans leur paroi.

Si nous laissons de côté les détails relatifs à la nature des éléments qui concourent à la formation du système vasculaire et aux modifications intimes qu'ils subissent pour devenir des canaux sanguins, questions qui seront discutées bientôt, nous voyons qu'il y a aujourd'hui dans la science deux opinions : celle que soutenait autrefois Kölliker et qu'il a abandonnée aujourd'hui, au moins pour la formation des premiers vaisseaux de l'embryon,

1. *Kölliker*, Annales des Sciences naturelles. T. VI, 3e série, 1846, p. 91.

2. *Golubew*, Beitræge zur Kenntniss des Baues und der Entwicklungsgeschichte der Capillargefæsse des Frosches. *Arch. f. microsc. Anatomie*, 1869, p. 49.

d'après laquelle le développement du système vasculaire serait discontinu, de nouveaux éléments formés en dehors de lui venant s'ajouter aux anciens, et celle de Golubew qui a été acceptée par J. Arnold et Rouget. D'après cette dernière opinion, le développement des vaisseaux sanguins serait continu ; ils s'étendraient dans les organes par des bourgeons leur appartenant en propre et végèteraient au milieu de l'organisme à la manière d'un parasite.

Ce sont là du moins les idées générales qui ressortent des recherches de Golubew, si l'on en étend les résultats au développement du système vasculaire dans tous les organes et chez tous les animaux. Mais on n'a pas le droit de le faire, car l'extension des vaisseaux dans la queue des têtards n'est qu'un cas particulier de l'accroissement du système vasculaire. Il convient même, ainsi que nous l'avons exposé dans un autre travail[1], de bien distinguer le développement des vaisseaux sanguins de leur accroissement.

Nous arrivons maintenant aux méthodes de recherches qu'il faut employer dans l'étude de l'accroissement des vaisseaux de l'expansion membraneuse de la queue des embryons de batraciens.

Ce sont les têtards de la grenouille rousse (*Rana temporaria* ou *fusca*) et de la grenouille verte (*Rana esculenta*) qui ont le plus souvent servi aux recherches. La grenouille rousse pond au mois de mars, la grenouille verte en juin et juillet. Nous ne parlerons ici que des têtards de la grenouille rousse. Six à sept jours après la ponte, quelquefois un peu plus tard, cela dépend de la température extérieure, l'embryon s'agite et se dégage peu à peu de la couche gélatineuse qui l'enveloppe. A ce moment, l'expansion membraneuse de la queue est à peine formée, et l'on n'y distingue aucun rameau vasculaire. Les vaisseaux s'y montrent quelque temps après, vers le huitième ou le neuvième jour. Les premiers capillaires apparaissent dans l'expansion dorsale, au voisinage de sa base. Ils partent de l'artère et de la veine centrales de la queue. A cette époque du développement, il est quelquefois difficile de reconnaître les vaisseaux sanguins au milieu des différents éléments cellulaires qui sont infiltrés de granulations vitellines; mais, dans les jours suivants, du douzième au quinzième, l'expansion membraneuse s'étant accrue, et les granulations vitellines déjà en partie résorbées étant dispersées dans un plus grand espace, il est possible de voir d'une manière assez nette toutes les branches vasculaires dans lesquelles le sang circule.

Pour en faire l'observation, le têtard doit être immobilisé par le curare et maintenu sur la lame du porte-objet au moyen de papier à filtrer humecté (voy. p. 458). Les capillaires complètement formés s'accusent, au milieu des divers éléments de la membrane, par le double contour de leurs parois et la circulation dans leur intérieur. Ils présentent en certains points des renflements qui font saillie en dedans et correspondent à des noyaux.

Ces capillaires constituent un réseau dont les mailles ont des formes et des dimensions variables, et dont les dernières branches, celles qui avoisinent

1. Du développement et de l'accroissement des vaisseaux sanguins. *Arch. de physiol.*, 1874, p. 429.

le bord externe de l'expansion membraneuse, se terminent librement par des pointes droites ou plus ou moins incurvées. Des pointes semblables se rencontrent aussi en d'autres endroits des vaisseaux, là, par exemple, où ils circonscrivent des mailles fermées (fig. 228). Ces pointes se terminent par une, deux et rarement trois extrémités effilées qui se perdent au milieu des éléments voisins. Elles sont solides et constituées par une masse protoplasmique incolore, réfringente, qui, surtout lorsqu'on éloigne un peu l'objectif, se fait remarquer par sa clarté au milieu des différents éléments de la membrane. En cela elles se rapprochent de la paroi des capillaires et semblent être une émanation de celle-ci. La base de ces pointes correspond à la cavité perméable du vaisseau; généralement elle présente une concavité dans laquelle viennent s'engager les globules sanguins.

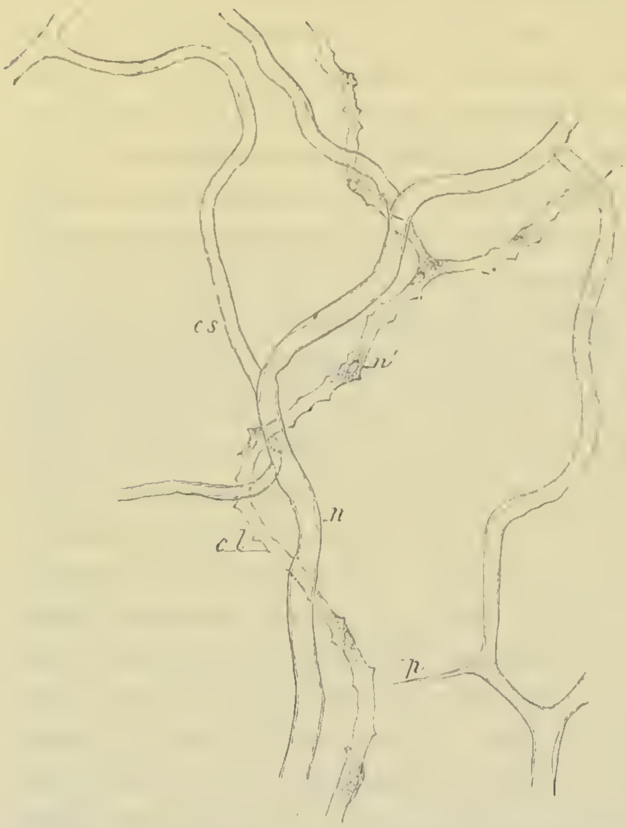


Fig. 228. — Capillaires sanguins et lymphatiques de l'expansion membraneuse de la queue d'un têtard vivant, la circulation continuant son cours. Les globules du sang n'ont pas été dessinés. — *c l*, lymphatique; *c s*, capillaire sanguin; *n*, noyaux des capillaires sanguins; *n'*, noyaux des lymphatiques; *p*, pointe d'accroissement des capillaires. — 250 diamètres.

En poursuivant pendant plusieurs heures l'observation d'une même région de la membrane où il existe de ces prolongements protoplasmiques en forme de pointes et en en faisant le dessin d'heure en heure, on peut s'assurer qu'ils s'étendent, en même temps que leur base se creuse peu à peu pour augmenter la longueur du vaisseau.

Lorsqu'une de ces pointes, en s'accroissant, rencontre une autre pointe, venue quelquefois de la même branche et plus souvent d'une branche capillaire voisine, elle se soude avec elle. D'après Golubew, cette soudure serait latérale, c'est-à-dire que les deux pointes qui viennent au-devant l'une de l'autre ne se confondraient pas par leur extrémité, mais se croiseraient et se souderaient par leur bord. J. Arnold[1], qui s'est placé dans d'autres conditions en étudiant les vaisseaux de nouvelle formation dans le bourgeon de régénération de la queue de têtard réséquée, pense que les points d'accroissement se soudent bout à bout par leur extrémité même. C'est là une question de détail sans importance.

Lorsque deux pointes d'accroissement se sont soudées, et que leurs bases

1. *J. Arnold*, Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklung der Blutcapillaren *Arch. d. Virchow*. T. LIII, 1871, p. 70.

se sont creusées pour former le capillaire embryonnaire, il reste au milieu de la branche vasculaire nouvellement constituée un bouchon protoplasmique, qui, attaqué des deux côtés par le choc de globules sanguins, s'amincit de plus en plus et finit par disparaître, en laissant un léger épaississement sur la paroi du capillaire.

Jusqu'au quinzième jour et même quelquefois au delà, les éléments cellulaires de la queue des têtards de grenouille rousse contiennent des granulations vitellines que l'on retrouve par conséquent dans les globules rouges du sang (voy. p. 178), dans la paroi des vaisseaux capillaires, surtout autour des noyaux, et dans les pointes d'accroissement. Ces granulations gênent un peu l'étude des phénomènes dont nous venons de parler; aussi vaut-il mieux les observer chez des têtards ayant une vingtaine de jours. Les modifications de la paroi des vaisseaux se feront plus lentement, mais cependant il sera encore possible de les suivre. Notons que les granulations vitellines disparaissent plus rapidement de l'expansion dorsale où se développent les premiers vaisseaux que de l'expansion ventrale. Dès lors, l'observation devra porter de préférence sur la première, si elle est encore gênée par la présence de ces granulations.

Tous les principaux phénomènes de l'accroissement des vaisseaux se reconnaissent bien sur la queue des têtards vivants, la circulation continuant son cours. Il est cependant avantageux d'employer aussi d'autres méthodes : des colorations variées pour rendre les noyaux plus évidents, l'imprégnation d'argent pour accuser la limite des cellules endothéliales et enfin des injections.

Lorsque l'on colore l'expansion membraneuse de la queue des têtards avec le carmin ou avec l'hématoxyline, après en avoir fixé les éléments délicats au moyen de l'alcool ou des solutions chromiques, les cellules épithéliales qui recouvrent les deux faces de la membrane gênent beaucoup l'observation ; il est impossible de les chasser après l'action des réactifs fixateurs dont nous venons de parler. C'est pour cela qu'Eberth[1] avait proposé de plonger d'abord pendant quelques minutes le petit animal dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 1000 et de le porter ensuite dans l'eau distillée pour en détacher l'épithélium avec le pinceau. Ce procédé est d'une application difficile, et il ne convient que lorsqu'on se propose de poursuivre ensuite l'imprégnation d'argent.

Il est un procédé plus simple et qui donne de bien meilleurs résultats. Il consiste à abandonner pendant quelques heures un têtard dans 2 à 3 centimètres cubes d'alcool au tiers, pour le porter ensuite dans l'eau distillée. Le mouvement de rotation qu'il éprouve par la diffusion de l'alcool dans l'eau suffit le plus souvent pour le débarrasser de son revêtement épithélial; s'il en reste quelques parties, il sera facile de les enlever avec le pinceau. La queue, munie de ses deux expansions, est alors placée dans la solution

1. *Eberth*, zur Entwicklung des Gewebe im Schwanze der Froschlarven. *Arch. de Schultze*, 1866, t. II, p. 490.

colorante, picrocarminate, hématoxyline, couleurs d'aniline, etc.; après un séjour convenable dans ces réactifs, elle sera lavée de nouveau et pourra être conservée dans la glycérine, ou, ce qui est préférable pour l'examen, dans l'eau phéniquée à 1 pour 100.

L'alcool au tiers dissout l'hémoglobine et fait même disparaître complètement le corps des globules rouges du sang en ne laissant que leurs noyaux. Il est cependant avantageux d'observer ces globules *in situ;* il faut à cet effet employer, au lieu de l'alcool au tiers, un mélange d'une partie d'alcool à 90 degrés et deux parties d'une solution de chlorure de sodium à 1 pour 100.

Les noyaux de la paroi des capillaires, qui, dans la membrane vivante, se confondent avec leur plaque endothéliale et par conséquent avec la paroi du vaisseau, sont maintenant bien distincts, et à côté d'eux, dans le protoplasma qui les entoure, se montrent des granulations vitellines, si l'observation est faite chez un têtard assez jeune. C'est aussi dans ces conditions qu'il sera facile de reconnaître la présence de ces granulations dans l'intérieur des globules du sang.

Toutes les pointes d'accroissement et leurs rapports se voient bien dans ces préparations.

Pour imprégner d'argent l'endothélium des capillaires, il convient de suivre la méthode qu'Eberth a indiquée pour chasser l'épithélium, puis de reporter la membrane dans la solution de nitrate d'argent et de l'y maintenir à l'obscurité pendant au moins une heure. Lavée avec de l'eau distillée, elle est montée en préparation dans de la glycérine et soumise à l'action des rayons solaires.

Il arrive quelquefois que l'endothélium des capillaires complètement formés montre le réseau d'imprégnation caractéristique, mais nous ne l'avons jamais vu s'étendre sur les branches en voie de croissance, et en cela notre observation concorde avec celle d'Eberth[1]. Partant de là, cet auteur a été amené à soutenir avec Stricker que les capillaires embryonnaires sont de simples tubes protoplasmiques, dans lesquels la structure endothéliale se développerait ultérieurement.

Les injections vasculaires de la queue des têtards sont difficiles à réussir. On les obtient par piqûre au moyen d'une seringue hypodermique à canule très fine, remplie de bleu de Prusse liquide. La pointe de la canule, introduite dans le corps du têtard vivant, est conduite jusqu'à la naissance de la queue; une légère pression exercée sur le piston de la seringue fait pénétrer le liquide, qui tantôt se répand simplement dans le tissu conjonctif, en formant une masse de diffusion, ou dans le système des vaisseaux lymphatiques, qu'il remplit plus ou moins complètement; tantôt, mais plus rarement, arrive dans le réseau sanguin. Pour cela, il faut que l'artère ou la veine centrale aient été ouvertes par la pointe de la canule. Comme on le voit, la réussite est incertaine, et il faut répéter l'expérience pour obtenir l'injection des vaisseaux sanguins. Nous conservons quelques-unes de ces préparations où tout le réseau capillaire est injecté; mais leur étude est loin

1. *Eberth*, Von den Blutgefæssen. *Stricker's Handbuch*, p. 208.

d'être aussi instructive que celle de l'expansion membraneuse chez l'animal vivant. Elles peuvent seulement servir à établir que chez le têtard il n'y a pas de communication périphérique entre les vaisseaux sanguins et lymphatiques. C'est un point sur lequel nous reviendrons à propos du système lymphatique

Nous ne recommandons pas l'usage et l'étude de ces injections. Les recherches histologiques contiennent par elles-mêmes assez de difficultés pour ne pas les augmenter encore. Il est une membrane où l'observation de l'accroissement des vaisseaux est beaucoup plus commode à faire et dont il est possible d'obtenir de très belles injections : c'est le grand épiploon du chat nouveau-né.

Développement des vaisseaux dans le grand épiploon du chat nouveau-né. — Les chats nouveau-nés, comme on le sait, ne sont pas rares, et il sera facile à chacun de s'en procurer. Voici maintenant les détails de l'expérience :

Le chat vivant est étendu sur une planchette; les quatre membres et la tête y sont solidement fixés. Une incision est pratiquée le long du bord interne du muscle sternomastoïdien; la carotide est dégagée au moyen de la pince et d'un crochet mousse; après l'avoir liée à sa partie supérieure, on y fait avec des ciseaux au-dessous de la ligature une petite ouverture qui est ensuite agrandie par une incision longitudinale. Lorsque l'hémorrhagie a débarrassé l'animal de la plus grande partie de son sang, on pousse dans le bout central du vaisseau, au moyen d'une seringue munie d'une canule fine liée avec soin (voy. p. 110), 30 à 40 centimètres cubes d'une masse de bleu de Prusse à la gélatine (voy. p. 107). Une dernière ligature étant placée au-dessous de la canule, la seringue est enlevée, et l'animal est abandonné au refroidissement; il est placé dans de la glace, si on opère en été. La cavité abdominale est alors ouverte; le grand épiploon, saisi délicatement avec une pince et détaché avec des ciseaux, est placé dans une solution saturée d'acide picrique. Il en est sorti au bout d'une heure, plongé dans l'eau et divisé en segments d'une dimension convenable. Ceux-ci, portés sur la lame de verre, sont régulièrement étendus. On laisse alors tomber à leur surface deux gouttes d'une solution de picrocarminate à 1 pour 100, on recouvre d'une lamelle, et une heure après on substitue la glycérine au picrocarminate en enlevant celui-ci au moyen d'une languette de papier à filtrer.

Nous ne connaissons pas de plus belles préparations pour étudier les vaisseaux sanguins en voie de croissance. Les principaux réseaux vasculaires de la membrane sont déjà formés; les rameaux qui en circonscrivent les mailles envoient dans l'intérieur de ces dernières un nombre variable de branches qui se terminent librement par des pointes d'accroissement. Ces branches, dont la forme et la longueur sont très variables, marchent dans différentes directions. Tantôt leurs pointes se rencontrent les unes les autres, tantôt elles aboutissent à un capillaire déjà formé; il résulte de leur réunion les figures les plus variées et qui défient toute description.

La masse d'injection n'arrive pas toujours jusqu'à la dernière extrémité

de l'espace perméable, mais elle l'atteint le plus souvent en dessinant une lumière étroite, sinueuse, qui contourne les noyaux du jeune capillaire.

Lorsque la matière colorée n'atteint pas jusqu'au cul-de-sac terminal, celui-ci est occupé par des globules du sang qui n'ont pas pu être chassés par l'injection. Au delà de ce cul-de-sac, dont la forme est plus ou moins régulière, s'étend la pointe d'accroissement proprement dite, qui se termine par une extrémité effilée. Elle est constituée par une masse protoplasmique légèrement colorée en jaune par le picrocarminate, tandis que dans son intérieur on aperçoit souvent un ou deux noyaux colorés en rouge.

La coloration au picrocarminate permet du reste de distinguer de la manière la plus nette les noyaux qui occupent la paroi des canaux vasculaires ainsi que la masse protoplasmique qui les entoure.

Dans certaines mailles du réseau, on rencontrera quelques-uns des éléments que nous allons bientôt décrire sous le nom de cellules vasoformatives et qui existent si abondamment dans le grand épiploon du lapin.

Développement des vaisseaux dans le grand épiploon du lapin. — Cellules vasoformatives. — Chez le jeune lapin, en effet, l'extension du système vasculaire du grand épiploon se fait en même temps par l'accroissement des réseaux capillaires anciens et par le développement de réseaux capillaires nouveaux dont la formation paraît se produire d'une façon tout à fait indépendante.

Nous avons vu (p. 304) que le grand épiploon du lapin adulte, où la réticulation n'est jamais aussi accusée que chez d'autres animaux, le chien, le chat, le cochon d'Inde, etc., présente par places des taches arrondies, *taches laiteuses*. La plupart de ces taches ne contiennent pas de vaisseaux sanguins, d'autres au contraire en sont largement pourvues. On y observe alors un réseau capillaire auquel arrive d'habitude une artériole et d'où part une branche veineuse. Au niveau des taches laiteuses, la membrane possède encore une minceur et une simplicité de structure qui favorisent d'une manière tout à fait exceptionnelle l'observation des premiers vaisseaux.

Chez les lapins en voie de croissance, il y a, dans le voisinage des cordons vasculaires, des taches laiteuses qui ne contiennent pas encore de vaisseaux, mais qui sont destinées à en posséder par la suite. C'est sur ces dernières que l'attention de l'observateur devra surtout être dirigée, car il pourra y reconnaître toutes les phases de la formation d'un réseau capillaire. Cette observation doit se faire d'abord sur une membrane dont les vaisseaux ont été injectés ; on suivra, pour pratiquer l'injection, les indications qui ont été données à propos du chat nouveau-né. Toutefois, nous ferons remarquer que chez le lapin les vaisseaux sanguins ont une résistance beaucoup moindre que chez le chat et que, dès lors, il sera nécessaire d'employer de plus grands ménagements et de faire pénétrer la masse avec plus de lenteur. Après le refroidissement, le grand épiploon détaché sera placé, soit dans le liquide de Müller, soit dans une solution saturée d'acide picrique, et lorsque, sous l'influence de ces réactifs, les éléments de la membrane auront été fixés,

celle-ci sera colorée et montée en préparation, comme il a été dit pour le grand épiploon du chat nouveau-né.

Dans les préparations du grand épiploon d'un lapin âgé d'un mois à six semaines, les taches vascularisées seront facilement reconnaissables. A côté d'elles s'en trouvent d'autres, arrondies ou irrégulières, souvent allongées, qui ne contiennent pas de vaisseaux perméables à l'injection. Dans quelques-unes d'entre elles, on observe un réseau constitué par des branches cylindriques pleines, finement granuleuses, munies de noyaux allongés en forme de bâtonnets, se colorant vivement en rouge par le picrocarminate, tandis que les cylindres protoplasmiques au milieu desquels ils sont plongés sont légèrement colorés en jaune. Ces réseaux, que j'ai désignés sous le nom de *réseaux vasoformatifs*, ne sont pas encore en continuité avec le système vasculaire général, mais ils sont destinés à se mettre en rapport avec les vaisseaux perméables au sang et à devenir de véritables réseaux capillaires.

On rencontre en effet, dans certaines préparations, des réseaux vasoformatifs qui ont été pénétré par la masse à injection dans une partie seulement et qui, dans le reste de leur étendue, présentent les caractères que nous venons de décrire. Une pointe d'accroissement venue d'un vaisseau voisin, artériole ou capillaire, a atteint le réseau, s'est mise en rapport avec une de ses branches, s'est fondue avec elle, tandis que, se laissant envahir par le sang au niveau de sa base, elle l'a conduit dans les portions les plus voisines du réseau vasoformatif, qui se sont creusées à mesure pour le recevoir.

L'observateur ne verra pas les phases du phénomène se dérouler directement sous ses yeux, mais il pourra les reconnaître en différents points de la préparation et rapprocher les unes des autres par la pensée les diverses observations ainsi faites. Sa conviction sera complète, surtout s'il a déjà suivi l'accroissement des vaisseaux dans la queue des têtards vivants, en l'examinant pendant plusieurs heures de suite, comme nous l'avons indiqué plus haut.

L'origine du réseau vasoformatif paraît être dans une cellule spéciale, la *cellule vasoformative*. Cette cellule devra être étudiée à l'aide de méthodes variées qui nous feront reconnaître sa forme, sa constitution, ses rapports et les modifications qu'elle subit pour constituer le réseau vasculaire embryonnaire. Parmi ces méthodes, celle que l'on doit employer d'abord consiste à examiner la membrane, vivante, pour ainsi dire, dans la sérosité péritonéale. Cette opération est un peu délicate. La sérosité péritonéale doit être déposée d'abord sur la lame de verre ; la membrane, réséquée avec des ciseaux, y sera ensuite placée et étendue convenablement avec des aiguilles, recouverte d'une lamelle et mise à l'abri de l'évaporation par une bordure de paraffine.

Chez les lapins très jeunes (sept ou huit jours après la naissance), les cellules vasoformatives se montrent d'habitude dans les taches laiteuses non vasculaires les plus voisines de celles qui contiennent des vaisseaux, comme des corps réfringents, cylindriques, rectilignes ou incurvés, munis de pointes protoplasmiques, dont la forme, l'étendue et la direction sont très variables. Leur réfringence est considérable, et c'est elle surtout qui les fait recon-

naître d'abord au milieu des éléments qui les entourent, notamment les cellules endothéliales qui recouvrent les taches laiteuses comme le reste de la surface de la membrane, les faisceaux du tissu conjonctif et les cellules connectives qui en occupent l'épaisseur. Les seuls éléments qui possèdent une réfringence à peu près égale sont les cellules lymphatiques. Ces dernières sont disposées en petits groupes autour des cellules vasoformatives et s'en distinguent par leur petite dimension et par leur forme généralement arrondie.

Les cellules vasoformatives sont constituées par une masse protoplasmique semblable à celle des cellules lymphatiques. Dans leur intérieur on remarque des globules rouges du sang[1] et des noyaux allongés dont le grand axe se confond avec celui de la cellule; ces noyaux sont difficiles à reconnaître et ne peuvent être bien distingués qu'avec de forts grossissements. De différents points de la cellule vasoformative, et particulièrement de ses extrémités, se dégagent des filaments protoplasmiques, semblables aux pointes d'accroissement des vaisseaux, et qui se terminent d'une manière libre ou se réunissent pour constituer une ébauche du réseau (fig. 229).

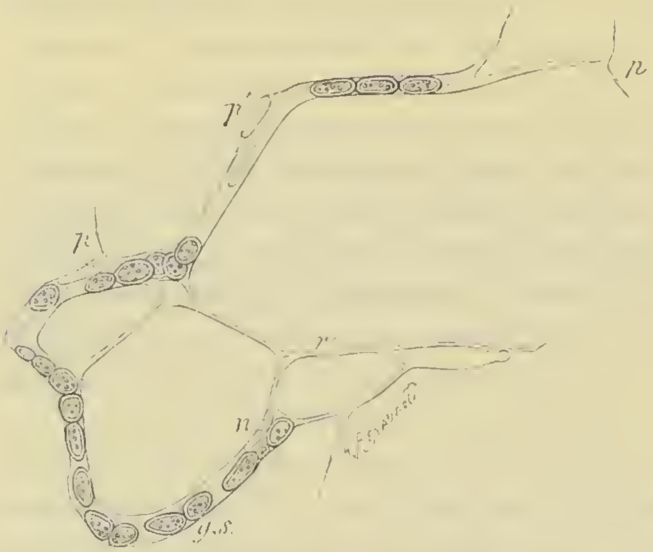


Fig. 229. — Réseau vasoformatif simple du grand épiploon d'un lapin de sept jours, examiné dans le sérum iodé faible. — *n*, noyaux; *g.s.*, globules sanguins; *p*, pointes d'accroissement; *r*, réseau formé par les pointes d'accroissement. — 100 diamètres.

Outre les noyaux qui occupent le centre de la masse protoplasmique et ceux qui ont été rejetés sur le bord par la canalisation partielle de l'élément, liée à la production de globules sanguins dans son intérieur, on peut en reconnaître encore d'autres qui en occupent la surface et ne lui appartiennent pas. Ce sont les noyaux des cellules connectives qui enveloppent déjà la cellule vasoformative et lui constituent une gaine incomplète.

Tous ces détails seront également bien observés, si, au lieu de la sérosité péritonéale, on prend comme liquide additionnel du sérum faiblement iodé (voy. p. 67).

Une autre méthode que l'on peut employer avantageusement dans l'étude des cellules vasoformatives est la suivante : le grand épiploon frais est

1. Schaefer (*Proceedings of the Royal Society*, 1874, n° 151), en étudiant le tissu conjonctif sous-cutané de jeunes rats, a observé des cellules plus ou moins remplies de globules rouges du sang. Cette observation, qui est postérieure à celles que j'ai faites sur les cellules vasoformatives du grand épiploon du lapin, a pour principal mérite d'avoir attiré l'attention sur la formation des globules rouges dans l'intérieur des cellules vasoformatives.

placé pendant vingt à vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, puis il est lavé à l'eau distillée et étendu sur une lame de verre. On laisse alors tomber sur la membrane quelques gouttes d'une solution de chlorure double d'or et de potassium à 1 pour 10 000, et on recouvre d'une cloche pour éviter l'évaporation et mettre à l'abri de la poussière. Une heure après, cette membrane, lavée de nouveau à l'eau distillée, est montée en préparation persistante dans la glycérine et exposée à la lumière. Au bout de quelques jours, elle se colore en rouge violacé ; la coloration ne porte pas seulement sur les nerfs, comme il arrive dans d'autres conditions où le sel d'or est employé, mais elle atteint les vaisseaux, les cellules lymphatiques, les cellules et les réseaux vasoformatifs.

Dans ces préparations, l'indépendance complète des réseaux vasoformatifs se reconnaît aussi nettement que dans les préparations faites après injection et dont nous avons parlé tout d'abord. Cette méthode d'imprégnation à l'or est même supérieure, car, dans les préparations par injection, on pouvait objecter que, si le réseau vasoformatif paraissait indépendant, cela tenait à ce que la masse à injection n'avait pas pénétré jusqu'au bout des voies perméables.

Les cellules vasoformatives colorées par l'or après l'action de l'alcool au tiers montrent leurs divers prolongements, mais les noyaux qu'elles contiennent sont plus distincts, et les globules rouges ne peuvent être reconnus dans leur intérieur, parce qu'ils ont été dissous par l'alcool dilué. Les cellules lymphatiques des taches laiteuses sont colorées par l'or comme les cellules vasoformatives, et de plus on remarque dans leur intérieur des granulations fortement colorées en violet. Ces granulations prennent une coloration rouge brun sous l'influence du picrocarminate ; leur constitution chimique nous est inconnue.

Nous arrivons à une troisième méthode qui consiste à colorer le grand épiploon avec de l'hématoxyline ou avec de l'hématoxyline et de l'éosine, après en avoir fixé les éléments par le liquide de Müller, ou mieux encore par l'acide picrique. On procédera de la façon suivante : le grand épiploon, immédiatement après avoir été enlevé, sera plongé dans une solution saturée d'acide picrique où il séjournera pendant une heure à peu près. On le portera ensuite dans l'eau, où il sera découpé en segments convenables. Ceux-ci seront placés sur une lame de verre et étendus à l'aide de la demi-dessiccation. Quelques gouttes d'une solution d'hématoxyline, riche en matière colorante et préparée depuis quelques jours, seront alors versées sur la membrane et en produiront la coloration au bout de quelques minutes. Lavée de nouveau, elle sera montée en préparation persistante dans la glycérine, ou bien elle sera auparavant soumise à la coloration par l'éosine.

Pour réussir cette dernière coloration, le segment du grand épiploon, coloré en bleu violacé par l'hématoxyline, est placé, après avoir été lavé, dans quelques centimètres cubes d'une solution d'éosine dans l'alcool. Au bout de dix minutes, la double coloration est produite, et la préparation, lavée une dernière fois, est montée dans la glycérine.

Les noyaux des cellules endothéliales, des cellules connectives, des cellules lymphatiques, des capillaires, des cellules et des réseaux vasoformatifs sont colorés en bleu intense. Le corps des cellules lymphatiques, celui des cellules vasoformatives et la paroi des vaisseaux capillaires ont une teinte violacée. Les globules rouges du sang et les plus petits fragments de ces derniers présentent une coloration rouge intense. Cette méthode, surtout lorsque l'on a employé d'abord la solution d'acide picrique pour fixer les éléments, donne des préparations d'une beauté remarquable et principalement avantageuses pour constater la présence des globules rouges du sang dans quelques-unes des cellules vasoformatives. Cependant, à ce dernier point de vue, elle n'est pas supérieure à la première des méthodes que nous avons indiquées, et qui consiste à observer ces différentes parties dans la sérosité péritonéale ou dans le sérum faiblement iodé. Son utilité consiste en ce qu'elle permet de faire, en prenant des animaux de différents âges, une série de préparations persistantes, que l'on pourra ensuite comparer entre elles, ce qui est très important pour l'étude d'une question aussi complexe et aussi difficile. Ce sont ces préparations dont nous allons parler maintenant.

Le système vasculaire perméable peut y être suivi exactement, aussi bien dans ses branches principales que dans son réseau capillaire, parce que la paroi des vaisseaux, colorée en bleu violacé, est bien visible et que les globules du sang colorés en rouge y forment une injection naturelle ; cette injection est complète, si la membrane était congestionnée au moment où elle a été plongée dans la solution d'acide picrique. Les cellules et les réseaux vasoformatifs sont nettement accusés, lorsqu'ils contiennent des globules sanguins ; mais s'ils n'en possèdent pas, ils sont difficiles à reconnaître au milieu des nombreux éléments cellulaires fortement colorés en bleu par l'hématoxyline. Ils seront beaucoup plus apparents dans le cas où la membrane, après l'action de l'acide picrique et avant d'être soumise à la coloration double, aura été plongée dans l'eau et débarrassée de ses deux couches endothéliales au moyen du pinceau.

Au moment de la naissance et pendant les deux jours qui la suivent, le grand épiploon n'a pris encore qu'un faible développement. Il recouvre simplement le bord convexe de l'estomac. Il s'accroît ensuite rapidement, et, vers la fin de la première semaine, il descend déjà au-devant du paquet intestinal.

Chez un lapin nouveau-né, le grand épiploon ne possède pas encore de taches laiteuses. Son réseau vasculaire est peu développé ; je n'y ai pas rencontré de cellules vasoformatives. Le quatrième jour après la naissance et surtout le cinquième, des taches laiteuses assez nombreuses, bien que peu étendues, se sont formées dans la membrane. La plupart d'entre elles ne contiennent pas encore de réseau capillaire perméable, mais presque toutes possèdent des cellules ou des réseaux vasoformatifs peu développés. Ces taches laiteuses, recouvertes d'endothélium, sillonnées par de petits faisceaux de tissu connectif, munies de cellules connectives à deux, trois ou un plus grand nombre de prolongements, sont caractérisées surtout par la pré-

sence de cellules lymphatiques dont les noyaux irrégulièrement arrondis, en bissac ou sinueux, quelquefois doubles, sont colorés en violet intense comme ceux des autres cellules. Elles ont un corps arrondi ou irrégulier, quelquefois muni de prolongements radiés. Elles sont colorées en violet, tandis que les cellules connectives présentent une coloration simplement bleuâtre ou mieux gris-de-lin. Les cellules vasoformatives qui sont placées au milieu ou à côté de ces dernières cellules se présentent sous deux formes : celle de boyaux allongés contenant des globules rouges et terminés par des pointes, comme nous les avons décrites plus haut, et celle de masses protoplasmiques arrondies ou ovalaires, dans chacune desquelles il y a un, quelquefois deux noyaux semblables à ceux des cellules lymphatiques et un nombre variable de globules du sang colorés en rouge par l'éosine. Dans l'intérieur de ces dernières cellules, outre les noyaux colorés en violet par l'hématoxyline et les globules du sang colorés en rouge par l'éosine, il existe des granulations dont la couleur, généralement d'un violet clair, tire souvent sur le rouge. Ce sont des cellules semblables que Schaefer a observées dans le tissu conjonctif sous-cutané des jeunes rats et qu'il considère, à tort, croyons-nous, comme des cellules du tissu connectif. La description que nous en avons donnée les rapproche au contraire des cellules lymphatiques, malgré leur dimension plus considérable qui paraît résulter d'une nutrition plus active et qui est en rapport avec leurs nouvelles fonctions.

Le grand épiploon d'un lapin d'une semaine possède des cellules vasoformatives de forme et d'étendue très variables, contenant toutes ou presque toutes des globules sanguins. Ces cellules, qui sont tantôt des masses globuleuses, tantôt des cylindres courts à extrémités mousses ou effilées, tantôt des corps irréguliers munis de nombreux prolongements, comme par exemple celle qui a été représentée figure 229, se montrent dans des taches laiteuses bien limitées ou dans différents points de la membrane. Dans ce dernier cas, elles sont le plus souvent dans la direction prolongée d'une branche vasculaire perméable terminée par une pointe d'accroissement. Chez des animaux de cet âge, les taches laiteuses possédant des réseaux vasoformatifs très compliqués, comme on les rencontre chez des animaux plus âgés, sont fort rares.

Les globules du sang sont situés isolément dans la masse protoplasmique de la cellule vasoformative, ou bien, ce qui est plus fréquent, ils y forment des groupes. Souvent, placés les uns à côté des autres dans une cavité cylindrique, ils affectent des rapports semblables à ceux qu'ils ont dans les branches vasculaires ouvertes. Ces globules ne contiennent pas de noyaux ; ils sont discoïdes et ont les dimensions des globules ordinaires ; quelquefois à côté d'eux il s'en trouve de beaucoup plus petits, semblables à ces débris en boule qui se forment dans le sang sous l'influence de la chaleur (voy. p. 158). Nous n'avons jamais rencontré dans l'intérieur d'une cellule ou d'un réseau vasoformatif un globule blanc à côté des globules rouges.

Chez des animaux plus âgés, quinze jours après la naissance, les réseaux vasoformatifs sont généralement beaucoup plus étendus, et chez les animaux

de vingt-cinq à trente jours, où le système vasculaire a pris une extension considérable, la membrane ayant atteint un notable développement, on observera des réseaux vasoformatifs étendus, compliqués, à branches très nombreuses, dans lesquels il n'y a pas un seul globule de sang; dans d'autres, on en découvrira quelques-uns en certains points du réseau. Enfin, de petites taches laiteuses contiendront parfois des cellules vasoformatives simples et sans globules rouges.

Chez les lapins d'un mois à six semaines, les globules sanguins deviennent de plus en plus rares dans les réseaux vasoformatifs, et finalement on n'en trouve plus un seul.

Il est inutile de pousser plus loin l'étude de ces différents faits; nous les avons indiqués simplement dans le but de guider les histologistes qui voudront faire des recherches à leur sujet. Nous devons maintenant les discuter et en tirer les données les plus importantes relativement à la formation des vaisseaux et du sang.

Comme on le sait, le système vasculaire considéré dans son ensemble éprouve chez l'embryon, au fur et à mesure qu'il se développe, des modifications notables, consistant non seulement dans la formation de nouveaux vaisseaux, mais encore dans l'atrophie et la disparition complète d'un certain nombre de ceux qui avaient été formés d'abord. C'est ainsi que les nombreux arcs aortiques qui existent au début de la vie embryonnaire disparaissent en grande partie dans la suite ; il n'en reste que les portions nécessaires pour constituer les gros troncs artériels de la partie supérieure du corps. Dès lors, il y a lieu de se demander si, le même processus se poursuivant après la naissance, les cellules et les réseaux vasoformatifs du grand épiploon du lapin ne seraient pas des portions du réseau vasculaire séparées du système général par l'atrophie des branches intermédiaires.

Cette hypothèse doit être écartée au moins pour la plupart des réseaux vasoformatifs, ceux des taches laiteuses par exemple, parce que, au lieu de s'atrophier, ils prennent un accroissement considérable à mesure que la membrane, qui au moment de la naissance était très limitée, acquiert une étendue de plus en plus grande pour atteindre les proportions que nous lui connaissons chez l'adulte. D'autre part, on ne trouve pas, entre ces réseaux vasoformatifs et les vaisseaux perméables, de cordons solides, avec des éléments cellulaires atrophiés, qui seraient le dernier vestige de vaisseaux atrésiés. Tout au contraire, et surtout quand les vaisseaux sanguins ont été injectés, il est facile de suivre l'expansion active des vaisseaux perméables jusque dans les réseaux vasoformatifs.

Il est cependant un fait difficile à expliquer dans l'état actuel : c'est l'existence de globules rouges sans noyaux dans les cellules vasoformatives. En effet, chez les très jeunes embryons de mammifères, les globules colorés du sang possèdent des noyaux[1]. Comment se fait-il alors que les globules rouges

1. M. Wissotsky, en étudiant le développement des vaisseaux sanguins dans l'amnios du lapin, y a reconnu l'existence de cellules vasoformatives, dans l'intérieur desquelles il y a

en voie de formation dans les cellules vasoformatives n'en renferment pas? Il faudrait dès lors admettre qu'il y a pour les globules du sang deux modes de formation : le premier, accepté depuis longtemps par les histologistes, consisterait dans la transformation d'une cellule nucléée en globule rouge; l'autre, que l'on peut suivre dans les cellules vasoformatives, serait une production intraprotoplasmique. Il serait comparable à la genèse des grains d'amidon dans les cellules végétales.

Bien que de nouvelles recherches soient encore nécessaires pour élucider tous les points relatifs au développement des vaisseaux dans le grand épiploon du lapin, il n'en reste pas moins acquis que des réseaux capillaires complets se forment et se développent après la naissance aux dépens de cellules spéciales, sans avoir d'abord aucune communication avec les vaisseaux anciens.

Développement des vaisseaux chez le poulet. — Revenons maintenant à la formation des vaisseaux dans l'embryon de poule. Ils apparaissent à la fin du premier jour d'incubation; mais le développement complet du réseau de l'aire vasculaire se montre seulement à la fin du second jour. A ce moment, si l'on ouvre l'œuf avec les précautions qui ont été indiquées (p. 187), on reconnaît que l'embryon est déjà formé. Autour de lui, il existe une zone claire, *aire pellucide*, complètement entourée d'une zone opaque, *aire opaque*, dont la limite externe est marquée par un vaisseau bordant ou circulaire, désigné sous le nom de *sinus veineux* ou *sinus terminal*. Au niveau de la tête, ce sinus s'infléchit pour donner naissance à une ou deux veines qui pénètrent dans le corps de l'embryon et vont concourir à la formation des veines omphalo-mésentériques. Quant aux artères omphalo-mésentériques, elles se dégagent latéralement de l'embryon au niveau des dernières vertèbres primitives et se résolvent en un réseau qui occupe la région postérieure de l'aire pellucide et toute l'aire opaque qui a reçu pour ce motif le nom d'aire vasculaire. Les ramifications périphériques de ce réseau viennent se jeter dans le sinus terminal.

Le cœur, *punctum saliens* des anciens, bat déjà et projette le sang dans tout le système vasculaire que nous venons de décrire. Si à ce moment, la plaque embryonnaire étant enlevée délicatement avec des ciseaux et placée sur une lame de verre, on isole le cœur et on le dissocie dans du sérum iodé, il se décompose en cellules fusiformes ou irrégulières, granuleuses, dans lesquelles on ne trouve aucun des caractères des éléments musculaires adultes. C'est là une observation facile et fort intéressante, parce qu'elle établit que des cellules, qui paraissent simplement constituées par une masse protoplasmique, jouissent de toutes les propriétés fondamentales de la fibre cardiaque.

L'observation microscopique du réseau vasculaire de l'embryon de poule

des globules rouges munis de noyaux. Il nous a montré les préparations qu'il avait faites de cet objet. Mais à l'époque du développement des embryons sur lesquels il a fait ses recherches, les globules du sang contenus dans les troncs vasculaires ont également des noyaux. Ce fait ne peut donc servir à résoudre la difficulté qui nous occupe.

à la fin du second jour peut être faite facilement dans les portions postérieures et latérales de l'aire pellucide en employant, pour fixer les éléments, le sérum iodé, suivant le procédé que nous indiquerons un peu plus loin. On y reconnaît le réseau capillaire dont les branches sont larges, contiennent des globules rouges groupés d'une manière variable dans leur calibre, et dont la paroi est constituée par des cellules granuleuses aplaties dans lesquelles il y a des noyaux fort distincts. Certaines des branches du réseau se terminent en cul-de-sac et paraissent destinées à s'allonger et à s'ouvrir dans une branche voisine. C'est là un mode d'accroissement qui paraît être commun dans le réseau de l'aire vasculaire, tandis que l'extension du réseau par des pointes protoplasmiques, pointes d'accroissement, y est au contraire plus rare.

Les différents phénomènes dont nous venons de parler ne sont pas relatifs à la première formation ou au développement proprement dit des vaisseaux sanguins. Cette première formation peut être observée de la 22e à la 25e heure de l'incubation. Elle a été signalée pour la première fois, il y a longtemps déjà, par Wolff; elle se fait d'une manière très singulière qui a sollicité l'attention de tous les embryologistes et a exercé leur sagacité, sans que cependant ce point de la science soit établi d'une façon définitive.

Dans la zone opaque d'abord, puis bientôt dans la zone pellucide, on distingue à l'œil nu de petits îlots arrondis, anguleux ou fusiformes, légèrement jaunâtres et dont la couleur s'accuse peu à peu pour prendre celle du sang. C'est là ce que l'on a désigné sous le nom d'*îlots sanguins*.

D'après Wolff, les vaisseaux se développent dans les espaces clairs situés entre ces îlots, et ces derniers constituent les mailles ou espaces intervasculaires du réseau. Pander[1] a démontré plus tard que ce sont au contraire les îlots opaques qui en s'agrandissant s'unissent les uns aux autres pour constituer le réseau capillaire.

Remak pensait que les îlots sanguins, formés en réalité par un amas de globules du sang embryonnaires, sont contenus dans des vaisseaux déjà formés et dont la circulation a été interrompue. Mais His[2] a démontré que les îlots sanguins existent à une époque antérieure à celle où la circulation s'établit et que les éléments cellulaires qui les constituent sont formés sur place dans l'épaisseur de cordons cellulaires pleins, déjà disposés en réseau. Ces cordons se creuseraient à leur centre de façon à constituer des canaux dans lesquels les éléments des îlots sanguins dissociés s'engageraient peu à peu au moment où le sang commence à circuler. Les cellules des cordons cellulaires refoulées à la périphérie formeraient la paroi des vaisseaux.

Kölliker[3] a décrit et figuré aussi ces cordons cellulaires et les îlots sanguins qu'ils contiennent; sa description ne diffère pas notablement de celle de His.

1. L'indication des travaux de Wolff et de Pander se trouve dans Kölliker, Entwicklungsgeschichte, 2e édition, 1876, p. 12, 13 et suiv.

2. *His*, Untersuchungen über die erste Anlage der Wirbelthierleibes. Leipzig, 1868, p. 96.

3. *Kölliker*, Entwicklungsgeschichte, etc., 2e édit., 1876, p. 158 et suiv.

Klein[1], au contraire, a émis à leur sujet une opinion qui se rattache jusqu'à un certain point à la théorie ancienne de Schwann sur la formation des vaisseaux. Chaque îlot sanguin correspondrait à une cellule devenue vésiculeuse et sur la surface interne de laquelle se formeraient les globules de sang qui, d'abord adhérents, deviendraient libres dans l'intérieur de la cavité et finalement la rempliraient. Les cellules des îlots sanguins s'ouvriraient ensuite les unes dans les autres pour former le réseau capillaire perméable.

Dernièrement, Lebouca[2] a formulé une opinion qui rattache les îlots sanguins et la formation des premiers vaisseaux dans l'aire vasculaire du poulet aux cellules et aux réseaux vasoformatifs, en ce sens que les cordons cellulaires qui précèdent l'apparition des vaisseaux sanguins seraient constitués par une masse de protoplasma parsemée de noyaux, dans l'intérieur de laquelle se formeraient des globules rouges du sang.

Nous allons indiquer maintenant le mode de préparation que nous avons suivi et les résultats qu'il nous a donnés.

Un œuf de poule, après 22 à 25 heures d'incubation, étant convenablement calé, on pratique dans sa coquille, au niveau de son équateur, une ouverture de deux centimètres de diamètre à peu près. L'embryon avec la zone pellucide et la zone opaque est ainsi mis à découvert. On l'arrose avec du sérum fortement iodé; mais comme ce liquide s'écoule et ne reste qu'un instant en rapport avec la partie sur laquelle on veut le faire agir, il importe de l'y retenir au moyen du procédé suivant: un tube de verre, ouvert aux deux bouts, plongé par une de ses extrémités dans le sérum, en retiendra une portion si l'on applique le doigt à son autre extrémité, comme on le fait avec une pipette. Le tube ainsi rempli et porté au-dessus de l'œuf, de manière à ce que son extrémité libre recouvre à peu près exactement l'embryon, et on le maintient dans cette situation. Au bout d'une à deux minutes, l'iode a fixé les éléments délicats de l'embryon et leur a donné une coloration qui en rend toutes les parties bien distinctes.

Tandis que la zone pellucide est faiblement teintée, le corps de l'embryon et la zone opaque sont fortement colorés en brun. Dans la zone opaque, la coloration brune n'est pas uniforme; elle ménage des bandes ou des îlots, sans régularité bien marquée à la vingtième heure d'incubation, mais qui, dans les heures suivantes, reproduisent la disposition des vaisseaux dans cette région. Sinus terminal, réseau qui y aboutit, rien n'y manque, et cependant, au moment où l'on venait d'ouvrir l'œuf, c'est à peine si l'on voyait quelque trace de cette disposition.

Cette méthode est recommandable encore à d'autres titres; elle nous fournit pour l'examen microscopique des préparations d'étude très démonstratives. A cet effet une incision circulaire faite avec des ciseaux tout autour et en dehors de la zone opaque permet de saisir avec une pince le bord du

1. *Klein*, Das mittlere Keimblatt in seinen Beziehungen mit den ersten Blutgefässen und Blutkörperchen im Hühnerembryo. *Centralblatt*, 1872, p. 110.

2. *Leboucq*, Recherches sur le développement des vaisseaux et des globules sanguins, 1876, p. 10, pl. I, fig. 4.

segment de la membrane du jaune ainsi détachée, et d'entraîner avec elle l'embryon sous-jacent. Pour l'en détacher, il suffit, sans déplacer la pince, de porter le tout dans du sérum iodé faible et de l'y agiter. L'embryon et les feuillets qui s'en dégagent sont alors étendus sur une lame de verre, la face inférieure regardant en haut. Une ou deux gouttes de picrocarminate au centième sont ajoutées; on recouvre d'une lamelle en soutenant celle-ci par des cales pour éviter la compression, et, lorsque la coloration est produite, on substitue la glycérine au picrocarminate.

On obtient aussi de bons résultats en faisant agir une solution d'acide picrique concentré avant de soumettre l'embryon à la coloration. Enfin, une solution d'acide osmique à 1 pour 100 peut être également employée pour fixer les éléments de l'embryon, mais les préparations faites par ce dernier procédé ne valent pas les premières.

A l'époque où les îlots sanguins ne sont pas encore nettement visibles à l'œil nu, vers la vingtième heure d'incubation, les préparations obtenues par l'action successive du sérum iodé et du picrocarminate montrent, à un faible grossissement, dans la zone opaque, les îlots sanguins de Wolff et de Pander constitués par des amas de noyaux colorés en rouge intense.

Sur les parties latérales de la zone pellucide, on aperçoit également quelques îlots rouges généralement arrondis et beaucoup moins étendus. L'observation devra porter sur cette région principalement, parce qu'elle n'est pas encombrée par les granulations vitellines. On pourra même l'étudier avec les plus forts objectifs.

On y reconnaîtra d'abord que les masses colorées en rouge par le carmin sont formées de noyaux reliés les uns aux autres par une petite quantité de protoplasma, que ce sont en un mot des cellules à noyaux multiples. Ces masses ou ces cellules sont déjà contenues dans des canaux vasculaires dont le calibre est relativement considérable. Leurs parois sont constituées par des cellules plates, indiquées surtout par leurs noyaux, car il est impossible détablir nettement leurs limites. Ces capillaires embryonnaires, anastomosés les uns avec les autres, font un réseau complet; cependant, en arrière des plis latéraux du capuchon céphalique, on observe constamment des vésicules sphériques ou légèrement allongées dont les parois présentent la même structure que celle des capillaires et dans l'intérieur desquelles il existe quelquefois des îlots sanguins.

L'observation que nous venons de donner ne se rapporte pas à la première formation des vaisseaux et du sang; pour l'étudier, il faut remonter plus haut et rechercher particulièrement les embryons chez lesquels la zone opaque, traités par le sérum iodé, ne montre pas encore le dessin caractéristique du réseau vasculaire[1]. On y reconnaîtra, toujours en examinant la zone pellucide, que le réseau capillaire est d'abord constitué simplement par des cellules; que ces cellules s'unissent les unes aux autres pour former des cor-

1. Le développement de l'embryon du poule, comme His l'a dit avec juste raison, n'est pas exactement en rapport, au moins pendant les premières heures, avec la durée de l'incubation, Aussi, pour observer tous les détails du premier développement des vais-

dons pleins, anastomosés entre eux. Aux points d'anastomose, points nodaux, le nombre des noyaux est considérable, tandis qu'il est faible dans les autres parties; il y a même des branches anastomotiques qui sont dépourvues de noyaux.

C'est généralement dans les points nodaux que se produisent les premières cavités vasculaires et les îlots sanguins. Les premières cavités vasculaires sont d'abord des creux remplis de liquide qui s'agrandissent et s'allongent pour canaliser les branches du réseau. Les noyaux et le protoplasma refoulés à la périphérie constituent les premiers éléments de la paroi du vaisseau. Ces éléments, agissant à la manière des cellules glandulaires, sécrètent un liquide, premier plasma du sang, qui distend peu à peu les branches du réseau.

Les îlots sanguins se forment aux dépens de certaines cellules des cordons vasculaires primitifs qui sont mises en liberté dans leur intérieur au moment de leur canalisation. Ces cellules sont sphériques et contiennent d'abord un seul noyau.

Bientôt ce noyau se multiplie et il prolifère avec une activité telle que la cellule formative du sang, singulièrement agrandie, est transformée en une boule dans laquelle tous les noyaux semblent se toucher. Plus tard, ces boules se désagrègent pour mettre en liberté leurs noyaux avec la faible quantité de protoplasma qui revient à chacun d'eux. Ce sont là les premiers globules rouges du sang. Leur constitution est presque entièrement nucléaire, et c'est la raison pour laquelle ils se colorent si vivement par le carmin.

Nous devons ajouter que les vésicules situées dans la zone pellucide en arrière des freins du capuchon céphalique sont composées de cellules formatives des vaisseaux qui ne se sont pas encore fondues avec le réseau général, mais qui sont destinées à en faire partie plus tard. Ce fait ne manque pas d'intérêt, car il montre que chez l'embryon de poule, comme chez le lapin nouveau-né, le développement du système vasculaire est discontinu.

Faisons remarquer encore que chez l'embryon de poule les cellules formatrices du sang se différencient des cellules vasoformatives, tandis que chez le lapin nouveau-né la même cellule concourt au développement du vaisseau et du sang. Voici comment nous nous rendons compte de cette différence importante : tandis que chez le poulet les globules rouges du sang sont des cellules nucléées, chez le jeune lapin ce sont de simples productions intra-cellulaires qui n'absorbent pas le matériel essentiel de la cellule. Celui-ci, noyau et protoplasma, peut dès lors servir à la formation du vaisseau.

SYSTÈME LYMPHATIQUE

Le système lymphatique est un des plus vastes et des plus importants de

seaux, convient-il de faire un très grand nombre de préparations en recueillant les œufs de la vingtième à la quarantième heure et il ne faudra pas toujours considérer comme les plus avancés dans leur développement ceux qui auront séjourné le plus longtemps dans l'étuve d'incubation.

l'organisme, car il comprend non seulement les vaisseaux, les follicules et les ganglions lymphatiques, mais encore les cavités séreuses et tout le tissu conjonctif.

Nous avons déjà fait une étude du tissu conjonctif et des cavités séreuses. Nous n'y reviendrons qu'autant qu'il sera nécessaire pour comprendre les premières origines des capillaires lymphatiques. Il nous reste à faire, dans deux chapitres différents, l'étude des vaisseaux et celle des ganglions lymphatiques. Dans un troisième chapitre, nous nous occuperons des cœurs lymphatiques des batraciens.

CHAPITRE XIV

VAISSEAUX LYMPHATIQUES

Nous diviserons l'étude des vaisseaux lymphatiques en trois parties : la première comprendra les troncs lymphatiques, la seconde les capillaires lymphatiques, la troisième l'origine des vaisseaux lymphatiques.

Nous confondons dans une seule description tous les troncs lymphatiques, car ils ont à peu près la même structure ; c'est ainsi que, chez un même animal, le chien par exemple, entre un vaisseau lymphatique du mésentère et le canal thoracique il n'y a guère que des différences de calibre. D'autre part, dans le système des vaisseaux lymphatiques comme dans le système vasculaire sanguin, les capillaires se distinguent des vaisseaux plus considérables par la simplicité de leur structure qui semble réduite à un endothélium. Il convient donc de les étudier à part.

Nous consacrerons un article séparé à l'origine des vaisseaux lymphatiques, parce que cette question, touchant à la fois au tissu conjonctif et aux cavités séreuses, doit être étudiée sur des objets bien déterminés et à l'aide de méthodes spéciales, différentes à plusieurs égards de celles que l'on emploie pour les recherches relatives aux capillaires lymphatiques proprement dits.

TRONCS LYMPHATIQUES

La structure des troncs lymphatiques n'a pas été jusqu'ici étudiée d'une manière suffisante. Recklinghausen, dans un article qui peut être considéré comme classique, leur consacre seulement quelques mots[1]. Il leur attribue, comme aux vaisseaux sanguins, une tunique interne, une moyenne et une externe. La minceur de leurs parois les rapprocherait des veines, tandis que que l'existence de fibres musculaires à direction transversale leur donnerait une certaine analogie avec les artères.

L'insuffisance de ces données s'explique par la difficulté même du sujet.

1. *Recklinghausen*, Das Lymphgefässsystem, *Manuel de Stricker*, 1871, p. 215.

Les vaisseaux lymphatiques, à cause de leur contenu transparent et de la minceur de leurs tuniques, sont difficiles à distinguer. Ce n'est pas sans peine qu'on les sépare du tissu conjonctif dans lequel ils sont plongés et auquel le plus souvent ils adhèrent intimement. Lorsqu'on y a réussi, ils reviennent sur eux-mêmes en formant des plis tellement compliqués qu'il est impossible de les étendre convenablement sur une lame de verre pour en faire l'examen. Si l'on en excepte le canal thoracique de l'homme et des grands animaux, on ne peut réussir par les procédés ordinaires à fendre suivant sa longueur un vaisseau lymphatique et à l'étaler comme une membrane. Il faut donc employer des méthodes spéciales que nous allons indiquer maintenant, en commençant par le canal thoracique.

Coupes. — Chez l'homme et chez les grands mammifères, pour étudier le canal thoracique, on y fera des coupes longitudinales et transversales, en suivant exactement les indications que nous avons données à propos des veines (voy. p. 441). Chez l'homme, ce canal a des parois assez épaisses pour qu'on puisse, après l'avoir isolé, le diviser et l'étendre convenablement au moyen d'épingles sur une lame de liège.

Chez le chien, cette opération est déjà difficile, et, pour obtenir une extension régulière des tuniques du canal thoracique, nous conseillons le procédé suivant : l'animal étant sacrifié, on ouvre largement la cage thoracique. Le poumon gauche étant soulevé et écarté, on aperçoit à côté de l'aorte le canal thoracique rempli d'une lymphe plus ou moins lactescente, suivant la période de la digestion. Ce canal est disséqué avec soin dans toute sa longeur, et, après que l'on a appliqué une ligature à chacune de ses extrémités pour maintenir son calibre en empêchant la lymphe de s'écouler, il est enlevé et placé sur une surface propre, un linge par exemple. On y fait une incision à son extrémité postérieure, il s'écoule une partie de la lymphe, celle qui était comprise entre l'incision et une première paire de valvules. On introduit dans canal thoracique, par cette incision, la canule d'une seringue remplie d'air et on la fixe par une ligature. On ouvre le canal à l'autre bout, et, lorsque toute la lymphe s'est écoulée par cette dernière ouverture, on la ferme par une seconde ligature. On distend alors le canal par insufflation en projetant l'air au moyen de la seringue. On le lie au-dessous de la canule et on le détache pour le faire sécher. Lorsqu'il est sec, on en enlève des lambeaux que l'on utilise pour des coupes ou pour un examen à plat. Commençons par ces dernières préparations.

Un petit segment du canal thoracique étant retranché, nous le fendons suivant sa longueur et nous l'étalons sur une lame de verre, en nous servant de la vapeur de l'haleine pour le ramollir et le faire adhérer au verre. Ajoutons une goutte de picrocarminate et recouvrons d'une lamelle. A un grossissement de 150 à 200 diamètres, nous y reconnaîtrons un réseau élastique superficiel appartenant à la tunique interne et un réseau plus profond à mailles plus larges formé par de plus grosses fibres disposées sur plusieurs plans; toutes ces fibres élastiques son colorées en jaune sur un fond rouge dans lequel on distinge vaguement des noyaux

Lavons avec de l'eau pour enlever l'excès de la matière colorante et traitons par l'acide acétique; tous ces noyaux deviendront très apparents. Tout à fait à la surface, ils sont arrondis et très plats; ils correspondent à l'endothélium. Dans une couche plus profonde, on en remarque qui sont allongés en forme de bâtonnets; ils sont caractéristiques des fibres musculaires lisses, dont on aperçoit du reste vaguement la limite. La direction qu'affectent ces noyaux doit être notée, parce qu'elle correspond à celle des fibres musculaires elles-mêmes. En général elle est transversale; mais un certain nombre des noyaux musculaires sont plus ou moins obliques à cette direction, jusqu'à faire avec elle un angle de 45 degrés. Les noyaux obliques comme les transversaux forment de petits groupes qui correspondent, comme on peut le reconnaître déjà, à des faisceaux de cellules musculaires qui s'entre-croisent ou s'anastomosent. Au-dessous des éléments musculaires, on distingue le réseau élastique et des noyaux de cellules connectives.

Les coupes longitudinales du canal thoracique du chien présentent avec les coupes longitudinales de la veine jugulaire du même animal une très grande analogie. A la partie interne du vaisseau, il existe un réseau de fibres élastiques très fines sur lequel repose l'endothélium reconnaissable à ses noyaux superficiels; au-dessous, se voit une couche de fibres musculaires coupées transversalement ou obliquement réunies par petits groupes et prises dans un réseau élastique dont les mailles sont comblées en partie par elles, en partie par des faisceaux de tissu connectif. Dans les portions externes, celles qui correspondent à la tunique adventice des auteurs, les fibres musculaires ont disparu; on n'y observe que le réseau élastique et les faisceaux connectifs.

Les coupes longitudinales du canal thoracique de l'homme, faites en suivant les indications que nous avons données pour les veines, nous montrent, tout à fait à la surface, le réseau élastique sous-endothélial. Au-dessous, les cellules musculaires isolées ou groupées en petits faisceaux, associées à des faisceaux de tissu connectif et à des fibres élastiques, forment une couche relativement considérable, si on la compare à la tunique musculaire du canal thoracique du chien. Les cellules musculaires qui entrent dans sa constitution sont transversales, longitudinales ou obliques, et sont mêlées de telle sorte qu'il est impossible d'y reconnaître un arrangement régulier. Notons cependant que les fibres à direction transversale sont toujours prédominantes et semblent occuper la région moyenne. Quant à l'adventice, sa limite n'est nettement accusée ni en dedans ni en dehors. En dedans, elle se continue avec le tissu connectif de la couche musculaire; en dehors, elle se perd dans le tissu conjonctif diffus du médiastin postérieur. Elle renferme dans ses mailles un nombre plus ou moins considérable de cellules adipeuses, suivant l'état d'embonpoint du sujet.

Le canal thoracique présente donc chez l'homme une musculature développée et compliquée qui paraît être en rapport avec son attitude habituelle et avec la nécessité pour la lymphe de circuler malgré la pesanteur.

Imprégnation d'argent. — Pour reconnaître la disposition de l'endothélium du canal thoracique et même pour apprécier exactement la direction

des cellules musculaires sous-jacentes, il convient d'avoir recours à l'imprégnation d'argent. Elle doit être pratiquée de préférence sur le canal thoracique du chien. Ce canal, recueilli comme il a été dit plus haut, vidé de la lymphe qu'il contenait, est ensuite rempli, au moyen de la seringue, d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 ou à 1 pour 800. Cette solution y est maintenue pendant au moins une heure, puis elle est remplacée par de l'air, et le vaisseau est abandonné à la dessiccation, en suivant le procédé que nous avons déjà indiqué (p. 489). Lorsqu'il est complètement desséché, des segments en sont retranchés avec des ciseaux pour être montés en préparation dans la glycérine, ou mieux encore dans le baume du Canada, après qu'on les a éclaircis dans l'essence de térébenthine ou de girofle.

L'endothélium, par sa disposition générale, se rapproche de celui des veines, mais une différence intéressante est à noter. Tandis que, dans les veines, les lignes intercellulaires sont régulières, dans le canal thoracique elles ont des ondulations, forme élémentaire d'une disposition que nous trouverons très accusée dans les capillaires lymphatiques.

L'endothélium qui recouvre les deux faces des valvules est également imprégné. La face interne, celle qui correspond au cours de la lymphe, est revêtue de cellules semblables à celles de la paroi du vaisseau; comme ces dernières, elles sont allongées dans la direction de l'axe du canal. Celles de la face externe sont polygonales et à peu près égales dans toutes leurs dimensions. L'endothélium des valvules du canal thoracique affecte donc une disposition comparable à celle que nous avons observée dans les veines, et elle dépend des mêmes influences. Pour la constater, on a recours aux procédés que nous avons indiqués pour les valvules des veines (voy. p. 445).

Revenons à l'examen de la paroi du canal thoracique. En beaucoup de points, sinon dans tous, surtout si la solution d'argent a été pendant au moins une heure en contact avec le vaisseau, on voit se dessiner, au-dessous de l'endothélium, les cellules musculaires. Séparées les unes des autres par des lignes noires d'imprégnation, elles forment des groupes entre lesquels se montrent des espaces imprégnés plus ou moins étendus, qui correspondent à des masses de tissu conjonctif. Les faisceaux musculaires ainsi accusés s'entre-croisent ou s'anastomosent suivant des angles variés. Les uns sont transversaux, d'autres sont plus ou moins obliques. Cette observation est d'accord avec celle que nous avons faite des noyaux musculaires de la membrane colorée au carmin et traitée par l'acide acétique.

La variété de direction des fibres musculaires dans les tuniques du canal thoracique est un caractère commun à tous les troncs lymphatiques, et on la retrouve au moins aussi marquée dans les plus petits de ces troncs, ceux du tissu conjontif diffus ou du mésentère, par exemple.

Les vaisseaux lymphatiques du mésentère peuvent être étudiés sans être isolés, parce qu'ils sont compris dans une membrane mince et transparente; nous y reviendrons tout à l'heure Il n'en est pas de même des vaisseaux lymphatiques du tissu conjonctif diffus, qui, le plus souvent, ne sont pas distincts au milieu du tissu cellulo-adipeux qui les enveloppe. Avant de les recueil-

lir, il faut les rendre apparents, en les remplissant d'une masse colorée que l'on utilisera ensuite pour leur préparation.

Injection de picrocarminate. — Si, au moyen d'une seringue hypodermique, on injecte dans un ganglion lymphatique (par exemple l'un de ceux de la région hyoïdienne du chien) une solution de picrocarminate à 1 pour 100, on voit les vaisseaux efférents se remplir du liquide coloré. Il est dès lors facile de les suivre, de les disséquer et de les enlever. Placés sur une lame de verre et recouverts d'une lamelle, on y reconnaîtra deux réseaux élastiques entre lesquels sont comprises des cellules musculaires lisses que l'on rendra apparentes en substituant au picrocarminate de la glycérine additionnée d'acide formique.

Injection de nitrate d'argent. — L'injection des vaisseaux efférents par piqûre peut se faire avec une solution de nitrate d'argent, mais elle ne donne pas de bons résultats, parce que la solution d'argent mélangée à la lymphe forme dans l'intérieur du vaisseau une masse granuleuse noire opaque sur laquelle on a peine à distinguer les lignes intercellulaires de l'endothélium et de la couche musculaire. Il vaut mieux, pour ce genre de préparations, choisir les vaisseaux lymphatiques du mésentère et employer le procédé suivant :

Le mésentère d'un jeune chat, un peu maigre et à jeun, convient pour ce genre de recherches. Dès que l'animal est sacrifié, la cavité péritonéale étant ouverte, en évitant autant que possible d'y faire pénétrer du sang, une anse d'intestin est tirée au dehors, et sur la lame mésentérique qui le sous-tend on applique la surface plane d'un bouchon de liège d'une dimension convenable. La membrane y est fixée en extension par un lien circulaire; on retranche ensuite avec des ciseaux l'intestin qui est resté au-dessous de la ligature, puis on coupe le mésentère à sa base. On obtient ainsi un segment de mésentère tendu sur l'extrémité du bouchon comme la peau d'un tambour. Dans ces conditions, la membrane est immergée dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 800 et y est maintenue pendant au moins une heure. Lavée dans l'eau distillée et plongée ensuite dans l'alcool, elle n'est enlevée du bouchon que lorsqu'elle a pris une rigidité telle qu'on peut la séparer sans qu'elle revienne sur elle-même. Une immersion de quelques minutes dans l'alcool absolu suffira alors pour la déshydrater; on l'éclaircira par l'essence de girofle et on la montera dans le baume du Canada.

Dans les rayons vasculaires du mésentère, à côté des artères et des veines, on reconnaîtra, à un faible grossissement, les lymphatiques caractérisés par l'irrégularité de leur trajet, leurs valvules, leurs renflements supra-valvulaires, leurs anastomoses et le caractère tout spécial de leur tunique musculaire. Les cellules musculaires, séparées les unes des autres par des lignes noires, ont une direction générale transversale; mais, comme dans le canal thoracique, un grand nombre d'entre elles sont plus ou moins obliques à cette direction et forment avec leurs voisines des angles variés. Cette obliquité des fibres musculaires est encore bien plus marquée dans les renflements supra-valvulaires où, en s'entre-croisant, elles forment un lacis

comparable, jusqu'à un certain point, au réseau des fibres musculaires du cœur. Cette analogie vient naturellement à l'esprit de l'observateur; le renflement supra-valvulaire paraît être, en effet, une poche contractile destinée à chasser la lymphe qui s'y est accumulée.

Dans ces préparations de vaisseaux lymphatiques faites par immersion dans le nitrate d'argent, l'endothélium peut être reconnu au-dessous de la couche musculaire, mais, comme celle-ci est fortement imprégnée, elle masque les

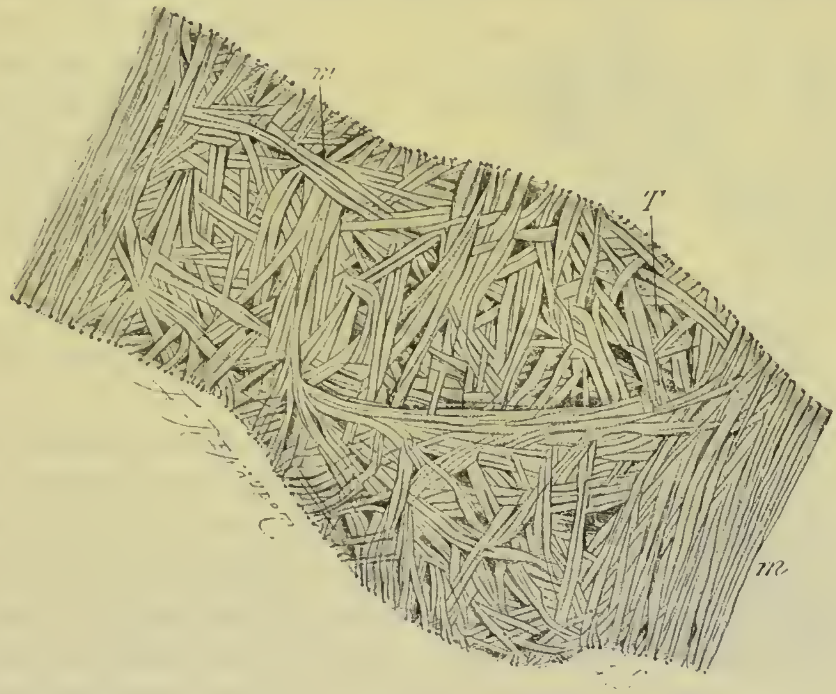


Fig. 250. — Renflement supra-valvulaire d'un vaisseau lymphatique du mésentère d'un jeune chat : imprégnation au nitrate d'argent. — *m*, fibres musculaires; T, intrication des fibres au niveau du renflement. — 100 diam.

lignes intercellulaires et souvent ne permet pas de les suivre. Les valvules y sont visibles, mais il n'est pas possible d'en reconnaître la disposition. Pour y arriver, le procédé suivant est à recommander :

Le mésentère, fixé sur le bouchon de liège comme pour l'imprégnation d'argent, est plongé pendant une heure ou deux dans une solution d'acide osmique à 1 pour 1000; après quoi, il est détaché, lavé et abandonné pendant plusieurs heures dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100. Lavé de nouveau, il est monté en préparation dans la glycérine ou dans le baume du Canada, en suivant les procédés classiques.

Les valvules sont alors reconnaissables avec tous leurs détails. Dans un même vaisseau qui sur son trajet en présente un certain nombre, elles se montrent de face, de profil, de trois quarts et dans toutes les situations intermédiaires, ce qui prouve d'une part qu'elles n'ont pas une position fixe par rapport au vaisseau, et permet d'autre part d'en faire l'étude complète dans une seule préparation. Disposées par paires, chacune d'elles est semblable à une des valvules sigmoïdes de l'aorte ou de l'artère pulmonaire, avec cette différence qu'au milieu de leur bord libre il n'y a rien d'analogue aux no-

dules d'Arantius. Elles sont donc en tout point semblables aux valvules des veines et du canal thoracique.

Les vaisseaux lymphatiques du mésentère s'injectent très souvent, même quand on ne le recherche pas, lorsque la masse est poussée par une des branches de l'artère mésentérique. Cette réplétion des vaisseaux lymphatiques par une substance injectée dans les artères est connue depuis fort longtemps[1]. Elle a conduit plusieurs observateurs à admettre des communications périphériques entre le système sanguin et le système lymphatique. De temps en temps cette idée est reprise, et aujourd'hui encore elle est soutenue par quelques histologistes; nous y reviendrons un peu plus loin.

Lorsque l'injection des lymphatiques par les artères est faite avec une masse colorée, les artères, les veines, les capillaires et les lymphatiques, possédant la même coloration, ne se distinguent les uns des autres que par leur disposition générale, et la préparation ne présente aucun avantage sur celles que nous avons indiquées plus haut. Si l'injection est faite, au contraire, avec une solution de nitrate d'argent, la structure des différents vaisseaux est mise en relief, et les rapports des artères, des veines et des lymphatiques sont faciles à reconnaître.

Chez la grenouille, où les grosses branches vasculaires du mésentère sont entourées de gaines lymphatiques, cette méthode est surtout à recommander. Voici comment on procède : La grenouille étant convenablement fixée, le cœur est mis à découvert; sa pointe est excisée de manière à débarrasser autant que possible le système vasculaire du sang qu'il contient. La canule d'une seringue, introduite par l'ouverture du cœur jusque dans le bulbe aortique, y est fixée par une ligature. On injecte alors une solution de nitrate d'argent à 1 pour 800. Ce liquide revient par la pointe du cœur, entraînant avec lui une partie du sang qui restait encore dans les vaisseaux. Lorsqu'il n'est plus coloré, une nouvelle ligature, appliquée en masse sur la base du cœur et qui doit comprendre la canule, fermera la voie de retour, et, en poussant une nouvelle quantité de liquide, on distendra suffisamment les vaisseaux pour faire pénétrer la solution d'argent dans les voies lymphatiques.

L'intestin grêle avec le mésentère qui le sous-tend est alors enlevé. Après lavage dans l'eau distillée, la membrane, convenablement étendue sur une lame de verre et débarrassée de l'intestin, est montée dans la glycérine, ou mieux encore dans le baume du Canada, après qu'elle a été déshydratée par l'alcool et éclaircie par l'essence de girofle.

Dans les rayons vasculaires, on distingue les artères, les veines et les gaines lymphatiques qui entourent ces vaisseaux.

1. Un certain nombre d'auteurs modernes attribuent la première observation de ce fait à Brücke, mais il est déjà indiqué par Bichat, qui en fait remonter la découverte à Meckel : « Les absorbants naissent-ils du système capillaire? Si on en juge par les injections, il semble que oui, car plusieurs anatomistes distingués, en poussant une injection fine par les artères, ont rempli les absorbants du voisinage ; je n'ai jamais vu rien de semblable; cependant je suis loin de nier un fait attesté par Meckel. » *Bichat*, Anatomie générale, 1812, t. II, p. 581.

Rusconi[1] a bien décrit ces gaines périvasculaires. Il les considérait, contrairement à l'opinion de Panizza sur les gaines lymphatiques en général, comme un simple manchon, et pensait dès lors que les vaisseaux sanguins sont immergés dans la lymphe.

Milne Edwards[2], qui, dans son traité de physiologie, discute cette question avec un grand discernement, arrive à conclure avec Panizza, mais sans preuves anatomiques directes, que tel n'est pas le rapport des vaisseaux sanguins et de leurs gaines lymphatiques. Ces dernières envelopperaient les artères et les veines comme le péricarde enveloppe le cœur, et le péritoine les intestins.



Fig. 231. — Gaines lymphatiques du mésentère de la grenouille, imprégnées d'argent par injection. — *a*, artères; *v*, veines; *c*, capillaire; *g*, feuillet externe de la gaine; *g'*, feuillet interne de la gaine; *b*, sac que forme la gaine à la racine du mésentère. — 20 diam.

En étudiant, même à un faible grossissement, des préparations du mésentère de la grenouille faites comme nous venons de l'indiquer, il est facile de s'assurer que les vaisseaux enveloppés de gaines lymphatiques sont recouverts d'une couche endothéliale, tandis qu'une couche semblable se montre à la face interne de la gaine. A la racine du mésentère, lorsqu'une artère et une veine sont à côté l'une de l'autre, elles ont une gaine commune; mais un peu plus loin, lorsqu'elles se séparent ou qu'elles se divisent, la gaine se partage à son tour pour former une enveloppe spéciale à chacune des grosses branches.

Tels sont dans leur ensemble les rapports des gaines lymphatiques et des vaisseaux sanguins. Il est certains détails de ces rapports déjà signalés par Rusconi que l'on peut reconnaître dans le mésentère observé chez l'animal vivant (voy. fig. 227, p. 461), mais qui sont beaucoup plus distincts lorsque, après avoir imprégné d'argent le système vasculaire du mésentère, on a soumis la membrane à la coloration par le carmin. Entre le feuillet périphérique de la gaine et son feuillet adhérent ou viscéral s'étendent des tractus fibreux qui s'unissent et se séparent pour constituer un réticulum semblable à celui du grand épiploon, et qui en diffère seulement parce que

1. *Rusconi*, Riflessioni sopra il sistema linfatico dei rettili. — Riposta alle censure che il prof. Panizza, etc., Pavia, 1845. — Ce n'est pas ici le lieu d'entrer dans la discussion qui s'est élevée entre Panizza et Rusconi au sujet des gaines lymphatiques périvasculaires.

2. *Milne Edwards*, Leçons sur la physiol., t. IV, p. 464.

les travées qui le composent sont anastomosées dans tous les plans. Elles sont recouvertes d'une couche endothéliale continue. L'endothélium du feuillet périphérique se poursuit donc sur le feuillet viscéral par l'intermédiaire des travées connectives qui les relient.

En dehors de l'endothélium du feuillet périphérique, il n'existe pas de fibres musculaires lisses, comme dans les troncs lymphatiques des mammifères. Les gaines périvasculaires de la grenouille, qui, par leur calibre et leur fonction physiologique, sont les équivalents des chylifères des animaux supérieurs, présentent dans leur structure la simplicité que nous allons trouver maintenant dans tous les capillaires lymphatiques.

CAPILLAIRES LYMPHATIQUES

Les capillaires lymphatiques des mammifères, comme les gaines lymphatiques des batraciens, ne possèdent pas de fibres musculaires. Leur endothélium imprégné d'argent se montre formé de cellules plates dont la longueur et la largeur sont à peu près égales et dont les bords possèdent des dentelures bien caractérisées.

Les capillaires lymphatiques sont abondants dans le derme de l'homme et des mammifères, dans les aponévroses et à la surface des muscles et des tendons, dans le péricarde viscéral, dans la plèvre pulmonaire et pariétale, dans le centre phrénique, dans toutes les muqueuses et en particulier dans celle de l'intestin où ils prennent le nom spécial de chylifères.

Dans des coupes de ces différents organes faites après durcissement par une des méthodes précédemment indiquées (p. 72-82), par exemple, l'action successive de l'alcool, de l'acide picrique, de la gomme et de l'alcool, colorées au picrocarminate et conservées dans la glycérine, on peut reconnaître les capillaires lymphatiques. Lorsqu'ils sont coupés perpendiculairement à leur direction, ils apparaissent, au milieu du tissu conjonctif, à côté des artérioles, des veinules, des capillaires et des nerfs, comme des lacunes laissées entre les faisceaux de tissu conjonctif simplement écartés les uns des autres ; ils sont limités par des noyaux ronds faisant une saillie très prononcée dans leur intérieur. Ces noyaux appartiennent à des cellules endothéliales qui, soudées les unes aux autres, maintiennent leur distance respective et les unissent à la couche sous-jacente. Cette couche se distingue parfois des faisceaux connectifs circonvoisins par une légère fibrillation spéciale. Le plus souvent, ces faisceaux, rapprochés les uns des autres, dépriment la membrane souple du lymphatique et en font disparaître complètement la lumière. Le vaisseau ne se traduit plus alors que par un petit groupe de noyaux analogues à ceux qui se trouvent placés ailleurs entre les faisceaux connectifs et qui, comme nous le savons aujourd'hui, appartiennent à des cellules plates.

Pour les histologistes qui adoptaient la manière de voir de Virchow sur le tissu conjonctif, un lymphatique ainsi comprimé aurait pu passer pour une

cellule plasmatique un peu plus grande que les autres, et possédant plusieurs noyaux.

D'après cette description, on jugera qu'il n'est pas toujours possible de déterminer que telle ou telle lacune du tissu conjonctif correspond à un capillaire lymphatique. Aussi convient-il d'injecter d'abord ces vaisseaux avant de faire durcir l'organe et d'y pratiquer des coupes.

Injections. — Autrefois ces injections étaient faites avec du mercure, non dans le but d'étudier au microscope les organes injectés, mais simplement pour dessiner à l'œil nu des réseaux lymphatiques. C'est là une méthode qui ne saurait convenir aux histologistes, et qu'ils ont complètement abandonnée aujourd'hui. Ils emploient, comme pour les vaisseaux sanguins, des masses colorées transparentes. Parmi ces dernières, le bleu de Prusse en solution aqueuse pure ou additionnée de gélatine (voy. p. 106) mérite la préférence. L'injection se fait par piqûre, soit au moyen d'une seringue, soit avec un appareil à pression continue (voy. p. 115). La réussite dépend de l'habitude que l'expérimentateur a de ce genre d'opération, et aussi un peu du hasard. La canule dont on se sert pour remplir un réseau lymphatique doit être fine, et son extrémité taillée en biseau peu allongé, de telle sorte que la pointe ne soit pas trop éloignée de l'orifice; elle doit réaliser jusqu'à un certain point la forme du tube de verre effilé dont les anciens anatomistes se servaient pour faire les injections au mercure. Supposons que cette canule soit adaptée à une seringue hypodermique remplie de la matière colorée et que nous nous proposions d'injecter les vaisseaux lymphatiques de la peau; nous la ferons pénétrer obliquement à travers l'épiderme jusqu'au derme, et, en exerçant sur le piston une pression modérée et régulière, nous verrons le plus souvent l'opération réussir, surtout dans les régions dont le système lymphatique est développé, les doigts de l'homme, par exemple. Si, après avoir fait l'injection des lymphatiques, on remplit les vaisseaux sanguins du doigt d'une masse de carmin à la gélatine (voy. p. 105), les préparations obtenues par coupes, après durcissement de la peau dans l'alcool, montées dans le baume du Canada, seront belles et démonstratives. Le système sanguin et le système lymphatique, colorés différemment, ne pourront être confondus.

On obtiendra également de fort belles préparations des capillaires sanguins et des vaisseaux lymphatiques de la membrane interdigitale de la grenouille, en remplissant d'abord le système vasculaire sanguin de cet animal d'une masse de carmin à la gélatine et en faisant ensuite pénétrer dans les lymphatiques du bleu soluble additionné également de gélatine. Les deux injections doivent être pratiquées, le corps de l'animal étant élevé à une température de 36 à 38 degrés. L'injection du système vasculaire se fait en introduisant la canule dans le bulbe aortique, d'après les indications que nous avons données un peu plus haut (p. 494), à propos de l'imprégnation des vaisseaux sanguins et des gaines lymphatiques du mésentère. Pour faire pénétrer la masse bleue dans les vaisseaux lymphatiques de la membrane interdigitale, l'opération est beaucoup plus simple. On y réussit en enfonçant

obliquement de haut en bas sous la peau, au-dessous de l'articulation fémoro-tibiale, une canule sur laquelle on liera le membre entier. En poussant alors la masse dans le sac lymphatique sous-cutané, on la verra gagner peu à peu et atteindre la membrane interdigitale, en remplissant tous les vaisseaux lymphatiques de cette dernière.

Lorsque la double injection a été pratiquée, la patte entière est plongée dans l'alcool, les doigts étant maintenus écartés. Dès que le réactif aura fixé convenablement les tissus et les matières injectées, on détachera avec des ciseaux les membranes interdigitales; celles-ci seront ensuite complètement déshydratées par l'alcool absolu et montées dans le baume du Canada.

Les vaisseaux lymphatiques apparaissent alors, à un grossissement de 80 à 100 diamètres (fig. 252), à côté, au-dessus ou au-dessous des capillaires sanguins, sous la forme de vaisseaux larges, aplatis, anastomosés les uns

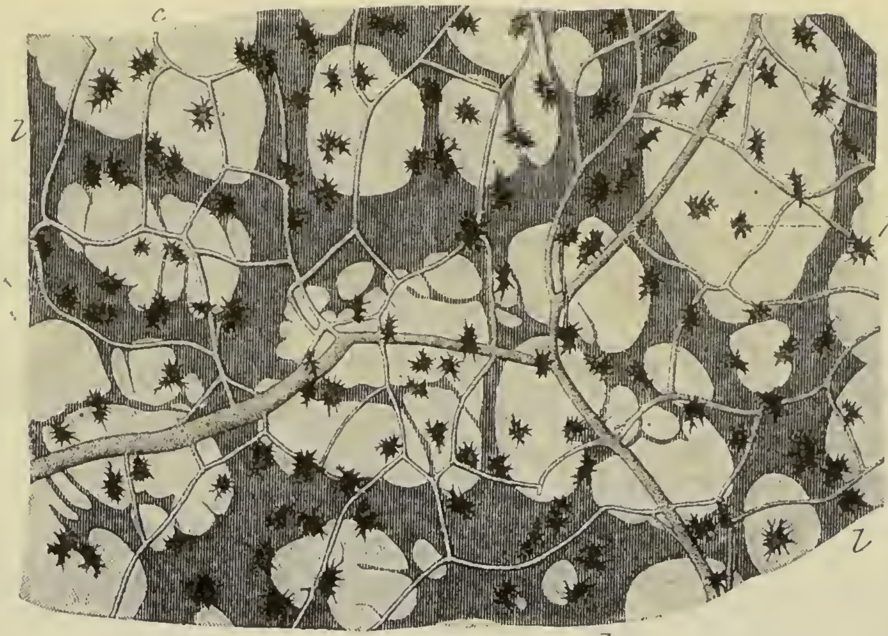


Fig. 252. — Membrane interdigitale de la grenouille dont les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques ont été injectés. — *c*, capillaires sanguins; *l*, capillaires lymphatiques; *p*, cellules pigmentaires. — 50 diam.

avec les autres. Ils constituent ainsi un réseau à mailles arrondies dont le diamètre est fort variable. De ce réseau se dégagent des branches terminales qui finissent en pointe. Dans les préparations les mieux réussies, la masse ne semble pas aller au delà.

Nous devons indiquer maintenant la manière d'injecter les vaisseaux lymphatiques de l'intestin. Les préparations, pour être démonstratives, doivent montrer les vaisseaux sanguins remplis d'une masse rouge au carmin, tandis que les lymphatiques sont injectés au bleu de Prusse. Il faut commencer par l'injection des vaisseaux sanguins.

Chez le lapin, la masse rouge étant préparée suivant les indications qui ont été données page 105, et une seringue munie d'une canule convenable étant remplie de cette masse et maintenue dans l'eau chaude, on attache le

lapin sur la planchette, on découvre une des carotides, on l'incise de manière à faire mourir l'animal d'hémorrhagie. Dès qu'il est mort, on ouvre largement la cavité abdominale, et l'on introduit la canule de la seringue dans une des artères mésentériques suivant les règles habituelles. L'arc d'intestin correspondant à cette artère est alors lié à ses deux bouts et on se hâte de faire l'injection afin qu'elle soit complète avant le refroidissement de l'animal. Si on la voit suivre un trajet récurrent en s'engageant dans des branches anastomotiques, on les lie ou on les pince. Quand elle revient par la veine collatérale, celle-ci est liée à son tour. On continue d'injecter et, si l'on a été un peu lent, il faut réchauffer l'anse d'intestin en l'arrosant avec de l'eau dont on a élevé la température de 50 degrés environ.

Quand la masse rouge est prise par le refroidissement, ce qui se produit en quelques minutes, on fait l'injection des chylifères avec une seringue hypodermique dont la canule mince, en acier ou en platine irridié (voy. p. 47), doit avoir l'ouverture terminale très près de la pointe; car on procède par piqûre et la couche dans laquelle on doit faire pénétrer la canule n'a qu'une très faible épaisseur. Cette couche n'est autre chose que la tunique celluleuse, c'est-à-dire cette lame de tissu conjonctif diffus, comprise entre la musculeuse de l'intestin et la musculaire de la muqueuse intestinale.

Le plexus lymphatique qui l'occupe est tellement riche qu'on ne saurait y faire pénétrer la pointe de la canule, en pressant même très légèrement sur le piston de la seringue, sans qu'il se produise immédiatement une injection des chylifères, qui s'étend et se complète sous la forme d'une tache réticulaire bleue, lorsque l'on a employé pour la faire du bleu de Prusse soluble. Bientôt, poursuivant son trajet dans les lymphatiques des tuniques intestinales, cette masse atteint les lymphatiques du mésentère et, les injectant, les montre avec les nombreuses nodosités qui correspondent aux renflements supra-valvulaires.

Lorsque la double injection est produite, on remplit l'anse intestinale d'alcool ordinaire de manière à la distendre régulièrement, afin de fixer les tissus et en même temps les masses d'injection. On l'enlève ensuite et on la place tout entière dans un bain d'alcool. Lorsqu'elle y a séjourné quelques heures, on l'ouvre par une incision longitudinale et on reconnait les régions dans lesquelles les chylifères sont injectés à leur coloration bleue. On les enlève et on les porte dans l'alcool absolu. Le lendemain, on y fait des coupes longitudinales et transversales qui, éclaircies par l'essence de girolle et montées dans la résine dammare, donnent des préparations démonstratives.

Les villosités intestinales du lapin sont cylindriques, de telle sorte qu'elles ont le même aspect dans les coupes longitudinales et dans les coupes transversales. On distingue vaguement dans ces préparations, mais d'une manière suffisante pour le reconnaître, l'épithélium de la surface; immédiatement au-dessous, le réseau capillaire rempli de la masse rouge, à mailles étroites, qui se trouve dans les couches superficielles du stroma connectif

de la villosité. Le centre de celle-ci est occupé par une vésicule relativement considérable remplie de la masse bleue. L'épaisseur des tissus compris entre le réseau capillaire et le chylifère central est très variable. Cela dépend de l'état de réplétion de celui-ci. En fait, chez le lapin, le chylifère central est une vésicule ou une ampoule. Il en part un, deux, trois et même un nombre plus considérable de vaisseaux lymphatiques de diamètre différent qui se divisent et quelquefois s'anastomosent dans le trajet qu'ils suivent pour atteindre la base des villosités. Habituellement, ils vont se jeter dans un plexus situé au-dessous du plexus veineux. Les deux plexus, le plexus veineux et le plexus lymphatique, occupent la tunique celluleuse de l'intestin.

Chez le rat, la disposition des chylifères des villosités intestinales est tout autre que chez le lapin.

Pour l'étudier, il faut encore avoir recours à l'injection double, celle des vaisseaux sanguins en rouge et celle des lymphatiques en bleu. Pour l'obtenir, il faut suivre des procédés différents à beaucoup d'égards de ceux que je viens d'indiquer pour le lapin. En effet, on ne peut pas mettre une canule dans une artère mésentérique du rat ; mais cela n'est pas nécessaire. Voici comment il faut procéder :

On décapite l'animal. On ouvre le thorax, on place la canule dans l'aorte immédiatement au-dessus du diaphragme et on la fixe par une bonne ligature. On place une ligature d'attente sur la veine cave inférieure. On injecte la masse rouge. Lorsqu'elle revient par la veine cave, on serre la ligature d'attente, puis on termine l'injection. On place l'animal tout entier dans l'eau froide pendant une demi-heure environ pour solidifier la gélatine. On ouvre la cavité abdominale. Il faut maintenant injecter les chylifères de bleu de Prusse soluble. Ce n'est pas chose facile, et je crois que personne ne l'a fait avant moi. Il n'y a pas de canule de métal assez fine. Il faut en fabriquer soi-même en effilant des tubes de verre. Ces canules sont adaptées à une seringue de Pravaz au moyen d'un tube de caoutchouc. Il faut piquer sur les bords des plaques de Peyer parce que les tuniques intestinales y sont plus épaisses et qu'on arrive plus facilement dans cette région à faire pénétrer la pointe de la canule entre la muqueuse et la musculeuse.

Lorsque la double injection est faite, on fixe les tissus et les masses avec de l'alcool en suivant exactement le procédé qui a été indiqué un peu plus haut à propos de l'intestin du lapin.

Les villosités intestinales du rat ne sont pas cylindriques comme celles du lapin. Ce sont des lames minces semi-lunaires fixées à la muqueuse par leur bord rectiligne et libres dans la cavité intestinale par le reste de leur étendue. Ces lames sont toutes orientées de la même façon. Le plan de leur surface est perpendiculaire à l'axe de l'intestin, de telle sorte que, dans une coupe longitudinale de l'intestin les villosités sont sectionnées perpendiculairement à leur surface. Ces villosités sont si peu épaisses que dans une coupe transversale de l'intestin, encore excellente pour l'observation

microscopique, il peut y en avoir de superposées comme les feuillets d'un livre. Alors elles ne sont pas nécessairement coupées et certaines se présentent tout entières à l'observation. On voit alors d'une manière admirable le réseau capillaire qui en occupe les deux faces et qui donne l'image de deux réseaux superposés. Entre ces deux réseaux se trouve, non plus un chylifère central comme chez le lapin, mais un véritable plexus lymphatique duquel partent des branches qui, après un trajet plus ou moins long, se terminent en cul-de-sac.

On réussit assez facilement chez le lapin l'injection des chylifères et de l'ampoule centrale qui leur donne naissance avec une masse de gélatine additionnée de nitrate d'argent (voy. p. 108). Après l'injection, l'intestin est durci par l'alcool, et on y fait des coupes longitudinales et transversales. On peut aussi l'examiner à plat.

Les coupes, placées d'abord dans l'eau, puis montées dans la glycérine ou la résine dammare, montrent dans les ampoules centrales et aussi bien dans les branches qui en partent que dans le plexus lymphatique de la sous-muqueuse, l'endothélium caractéristique des capillaires lymphatiques (voy. fig. 82).

Les ampoules des villosités, sous l'influence de l'injection de gélatine, se dilatent souvent à un degré tel, qu'entre leur limite et la base de l'épithélium il ne reste souvent qu'un liséré mince et, lorsque la coupe est épaisse de telle sorte que les villosités s'y montrent tout entières, l'endothélium de l'ampoule lymphatique paraît placé immédiatement au-dessous de l'épithélium cylindrique. On dirait un endothélium sous-épithélial.

Si l'injection des chylifères est faite, non plus avec de la gélatine additionnée de nitrate d'argent, mais avec une simple solution de ce sel, on arrive très facilement à injecter les lymphatiques qui se trouvent dans les rayons vasculaires du mésentère. Leur endothélium est alors très nettement imprégné. Cet endothélium n'a pas la forme caractéristique. Il est constitué par des cellules plates, losangiques, allongées dans le sens des vaisseaux, analogue par conséquent à celui des capillaires sanguins des veines et des artères.

C'est là un fait important et dont il faut tenir le plus grand compte, parce qu'il ne faudrait pas, en examinant une coupe dont les vaisseaux ont été imprégnés d'argent, considérer comme n'étant pas de nature lymphatique un vaisseau dont l'endothélium ne serait pas formé de cellules dentelées.

Imprégnation d'argent. — L'endothélium des capillaires lymphatiques s'imprègne par le nitrate d'argent avec la plus grande facilité. Des membranes, le grand épiploon et le centre phrénique du lapin par exemple, plongées pendant un certain temps (une demi-heure à plusieurs heures) dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 ou à 1 pour 800, lavées dans l'eau distillée et examinées dans la glycérine, permettent le plus souvent de reconnaître de la manière la plus nette l'endothélium des capil-

laires lymphatiques, alors que les capillaires sanguins ne présentent aucune trace d'imprégnation. Par contre, les artérioles s'imprègnent presque aussi facilement que les lymphatiques. Les veinules n'occupent sous ce rapport que le troisième rang.

Un peu plus loin, à propos du centre phrénique, nous reviendrons sur cette méthode et nous indiquerons quelques détails qui en assurent le succès.

On peut aussi imprégner d'argent les capillaires lymphatiques par injection artérielle, comme nous l'avons dit plus haut à propos des troncs lymphatiques. L'intestin grêle du lapin doit être choisi de préférence à tous les autres organes, parce qu'il est très mince. L'animal ayant été sacrifié par hémorrhagie, la cavité abdominale est ouverte, une canule de verre est introduite dans une branche de l'artère mésentérique ; les autres branches par lesquelles l'injection pourrait revenir sont liées. On envoie alors par la canule, soit avec une seringue en verre, soit avec l'appareil représenté figure 46, une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 qui doit remplir tout le système capillaire et revenir largement par les veines. Les parties dans lesquelles le nitrate d'argent a pénétré deviennent d'un blanc mat. Celles-ci sont détachées avec des ciseaux et placées dans l'eau distillée pour ramollir l'épithélium des villosités et des glandes et permettre de l'enlever au moyen du pinceau. Après cette dernière opération, la membrane intestinale, traitée par l'alcool, éclaircie par l'essence de girofle, est montée dans le baume du Canada.



Fig. 255. — Endothélium des capillaires lymphatiques de l'intestin du lapin, imprégnés d'argent. — 200 diam.

A l'examen microscopique, l'endothélium des vaisseaux sanguins, les fibres musculaires des artères et des veines sont dessinés par l'imprégnation d'argent. Les capillaires lymphatiques se reconnaissent à côté de ces vaisseaux à leur endothélium caractéristique (voy. fig. 255), tout à fait différent de celui des artères, des capillaires et des veines. Chaque cellule de cet endothélium est limitée par une ligne noire régulièrement sinueuse qui forme une figure semblable aux découpures des jeux de patience.

ORIGINE DES VAISSEAUX LYMPHATIQUES

L'origine des vaisseaux lymphatiques est une des questions les plus discutées et les plus obscures de l'histologie. Lorsque les anatomistes se conten-

taient d'étudier ces vaisseaux au moyen des injections au mercure, leur observation ne s'étendait guère au delà des troncs lymphatiques et des réseaux qu'ils forment, et ils voyaient dans ces réseaux la véritable origine du système absorbant. Aujourd'hui qu'à l'aide de méthodes meilleures on est arrivé à poursuivre plus loin les premières branches du système lymphatique, on a dû abandonner cette manière de voir. En même temps, l'étude du tissu conjonctif et des cavités séreuses, poursuivie avec ardeur par les histologistes, nous a ramenés pas à pas à la conception de Bichat sur les rapports des absorbants avec le tissu cellulaire. Tout en reconnaissant que ces rapports sont intimes, les différents auteurs dont nous allons avoir à parler, ne réussissant pas à faire des observations directes, ont été réduits sur ce point à une conception théorique dépendant de la manière dont ils envisageaient le tissu conjonctif.

Ainsi, d'après Virchow [1], les cellules connectives seraient étoilées, creuses, anastomosées les unes avec les autres par leurs prolongements, à la manière des corpuscules et des canalicules osseux. Ces cellules et leurs prolongements anastomotiques formeraient un système pour la circulation du plasma, et c'est pour cela qu'il les a nommées cellules plasmatiques. L'ensemble de ces cellules constituerait le système plasmatique, et c'est de ce système que les lymphatiques tireraient leur origine.

Kölliker [2], après avoir observé, dans la queue des têtards, des vaisseaux lymphatiques en voie de développement, se terminant par des pointes qu'il supposait creuses et en continuité avec des cellules connectives voisines, crut avoir trouvé la preuve que les cellules du tissu connectif présentent une cavité, comme Virchow l'avait soutenu et que l'origine du système lymphatique est réellement dans les cellules plasmatiques de Virchow. Une opinion analogue a été exposée par Leydig [3].

Cependant Henle [4] soutenait toujours que la cellule plasmatique est le produit d'une illusion ; d'après cet auteur, ce que Virchow avait pris pour des cellules n'était autre chose que les espaces laissés entre les faisceaux connectifs coupés transversalement.

Ludwig et Brücke [5], sans discuter la structure intime du tissu conjonctif et les rapports des cellules avec les faisceaux de ce tissu, furent les premiers qui, fondant leur manière de voir sur un ensemble de faits physiologiques, revinrent à la conception de Bichat, en plaçant l'origine du système lymphatique dans les fentes ou les interstices du tissu connectif.

Recklinghausen, auquel nous devons des faits si intéressants sur l'absorption des particules solides par les voies lymphatiques, est arrivé à soutenir une opinion analogue à celle de Virchow et qui n'en diffère en réalité que par la manière dont il envisage les canaux plasmatiques, auxquels

1. *Virchow*. Pathologie cellulaire. Trad. française, 1861, p. 74 et suivantes.
2. *Kölliker*. Traité d'histologie. Trad. française, 2e édition, p. 777.
3. *Leydig*. Traité d'histologie. Trad. française, 1857, fig. 211, p. 457.
4. *Henle*. Canstatt's Jahresbericht, 1851, vol. I, p. 23 et 24.
5. *Ludwig et Brücke*. Voir *Recklinghausen*, Manuel de Stricker, p. 223. Cf. p. 230.

il a donné un nom à peu près semblable : canaux du suc (Saftkanälchen)[1].

Les canaux du suc de Recklinghausen, les cellules plasmatiques de Virchow et de Kölliker n'existent pas. Il serait donc inutile d'y chercher l'origine des vaisseaux lymphatiques.

Dans le tissu conjonctif lâche ou diffus, tissu cellulaire de Bichat, les faisceaux glissent les uns sur les autres avec la plus grande facilité. Les liquides et les gaz, en les écartant simplement les uns des autres, peuvent s'accumuler dans leurs interstices, comme il arrive dans l'œdème et dans l'emphysème. C'est entre ces faisceaux, dans la vaste cavité qu'ils cloisonnent, que se fait la circulation des sucs nutritifs, et non dans des canalicules auxquels la plupart des histologistes ont cru, mais que personne n'a jamais vus. Suivant nous, c'est dans cette cavité cloisonnée du tissu conjonctif qu'il faut rechercher l'origine des voies lymphatiques.

Avant d'aborder la question des racines du système lymphatique chez les mammifères, il convient de l'étudier chez les batraciens.

Chez la grenouille, le tissu conjonctif sous-cutané est représenté, comme on le sait, par de grands sacs, sacs lymphatiques, qui communiquent les uns avec les autres. Le tissu conjonctif diffus rétropéritonéal des mammifères est également représenté chez les grenouilles par une grande cavité lymphatique qui, placée au-devant de la colonne vertébrale, en arrière du tube digestif et des sacs pulmonaires, occupe toute la longueur du tronc. Cette cavité, grande citerne lymphatique, est séparée de la cavité péritonéale par une membrane très mince, membrane rétropéritonéale. Schweigger-Seidel et Dogiel[2] ont découvert dans cette membrane une disposition intéressante, facile à observer et qui jette quelque lumière sur l'origine des premières voies lymphatiques.

Membrane rétropéritonéale de la grenouille. — Voici d'abord dans quelles conditions il faut se placer pour faire l'observation de la membrane rétropéritonéale. Une grenouille, empoisonnée par le curare ou immobilisée par destruction de la moelle épinière, est complètement écorchée ; puis, la cavité abdominale étant largement ouverte, on enlève avec précaution tous les viscères, les reins exceptés, en ayant bien soin de ménager la membrane rétropéritonéale qui recouvre ces derniers organes. Par un coup de

1. Dans ses premières publications (*Die Lymphgefaesse und ihre Beziehung zum Bindegewebe*. Berlin, 1862), Recklinghausen considère les canaux du suc comme des canicules bien limités, ayant une paroi, anastomosés les uns avec les autres, formant aux points l'anastomose des sortes de carrefours, dans l'intérieur desquels il y aurait, à côté du suc, une cellule. Cette cellule ainsi placée dans l'intérieur du système plasmatique ne serait pas creuse, mais simplement constituée par une masse de protoplasma ; telle était en effet, déjà à cette époque, à la suite des recherches de Schultze, la manière dont on devait concevoir la cellule animale. Dans un travail plus récent (*Das Lymphgefässsystem*, manuel de Stricker, p. 214. Voy. p. 226), postérieur à mes recherches sur le tissu conjonctif, Recklinghausen, revenant sur les *Saftkanaelchen*, essaye d'accommoder son ancienne théorie avec les idées modernes. Les canaux du suc prennent alors de si grandes dimensions que leur limite et par conséquent leur existence même deviennent incertaines.

2. *Schweigger-Seidel* et *Dogiel*. Ueber die Peritonealhöhle bei Froeschen und ihren Zusammenhang mit den Lymphgefaessen (*Arbeiten des physiolog. Laboratoriums zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig*, t. I, 1867, p. 68).

ciseaux donné au niveau des aisselles, on retranche toute la partie antérieure de l'animal. Réunissant alors les deux pattes abdominales au moyen d'un fil, on soulève le tronçon postérieur, on le plonge d'abord dans de l'eau distillée pour enlever les portions de sang qui y sont demeurées, puis dans un bain de nitrate d'argent à 1 pour 500, où il est constamment agité afin qu'il ne s'y forme pas de dépôt.

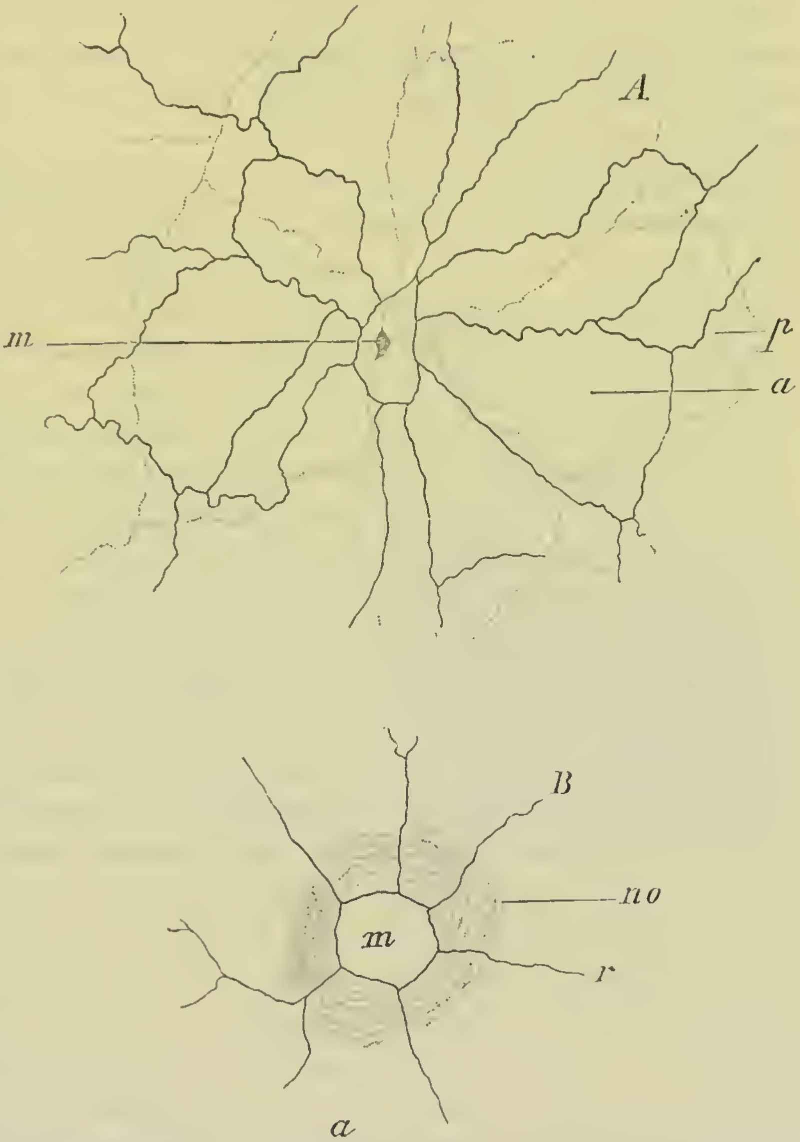


Fig. 254. — Membrane rétropéritonéale de la grenouille verte (*Rana esculenta*). A, imprégnée d'argent et vue par la face péritonéale : *a*, cellule de la face péritonéale ; *p*, cellule de la face lymphatique ; *m*, point de jonction des cellules de la face lymphatique au niveau d'une ouverture.
B, Revêtement endothélial de la face péritonéale de la membrane, isolé par le procédé de Schweigger-Seidel. — *a*, cellule : *r*, ligne intercellulaire imprégnée d'argent ; *no*, noyau ; *m*, ouverture. — 520 diam.

Lorsque l'imprégnation est produite, la grenouille étant mise de nouveau dans l'eau distillée, on voit flotter de chaque côté du rein une membrane blanchâtre dont l'endothélium est dès lors fixé et imprégné par l'argent. Détachée avec les ciseaux et placée sur une lame de verre, en déterminant exactement si elle y repose par sa face péritonéale ou par sa face lymphatique, tendue convenablement, laissée incolore ou colorée au picrocarminate et montée dans la glycérine, cette membrane est alors disposée pour l'étude. Supposons sa face péritonéale dirigée du côté de l'œil de l'observateur et étudions-la avec un objectif à grand angle d'ouverture. En abaissant d'une manière progressive au moyen de la vis micrométrique le tube du microscope, examinons successivement les différentes couches de la membrane. Nous pourrons y reconnaître ainsi, en allant de haut en bas, l'endothélium péritonéal, le tissu conjonctif et l'endothélium lymphatique.

Considérons d'abord l'endothélium péritonéal. De distance en distance, les cellules qui le constituent s'écartent les unes des autres pour laisser des ouvertures distribuées d'une façon à peu près régulière. Les cellules qui bordent ces ouvertures (A, fig. 254) diffèrent de celles qui se montrent dans les autres parties du revêtement. Tandis que ces dernières ont la forme de polygones dont les diamètres seraient à peu près égaux et possèdent des noyaux près de leur centre, les premières sont grandes, allongées, rangées comme des rayons autour de l'ouverture et contiennent des noyaux marginaux situés sur le bord même de l'orifice. Il en résulte que cet orifice semble limité par une couronne de noyaux.

Le tissu conjonctif sous-jacent est composé de petits faisceaux qui s'entre-croisent dans toutes les directions; il se condense au voisinage des ouvertures et forme autour d'elles une élégante couronne.

Les noyaux des cellules marginales reposent sur cette couronne, et même ils en prennent l'empreinte lorsque pour les préparer on suit le procédé qui a été indiqué par Schweigger-Seidel pour d'autres endothéliums : la membrane imprégnée d'argent, étendue par sa face péritonéale sur une lame de verre, est abandonnée à la dessiccation. Lorsqu'elle est à peu près sèche, le revêtement endothélial est suffisamment adhérent à la surface du verre pour qu'on puisse, sans le déranger, arracher le reste de la membrane. Dans ce revêtement endothélial, examiné tel quel, sans addition d'aucun liquide, on reconnaît les ouvertures, les cellules marginales et leurs noyaux (B, fig. 254), sur la surface desquels se dessine l'empreinte des fibres qui constituent la couronne connective.

L'endothélium lymphatique est formé de cellules plus grandes et plus sinueuses que l'endothélium péritonéal. Au niveau des ouvertures, elles affectent une disposition variable; le plus souvent, au centre de la couronne connective décrite plus haut se trouve le point de jonction de trois cellules contiguës qui paraissent soudées les unes aux autres ou sont séparées seulement par quelques grains noirs formés par un dépôt d'argent. Dans d'autres cas, une ouverture péritonéale correspond, du côté lymphatique, à un cercle noir, auquel viennent se rendre les lignes intercellulaires. D'autres fois, à la place du cercle noir dont nous venons de parler, se montrent une ou plusieurs cellules lymphatiques séparées des cellules endothéliales par une bordure noire plus ou moins épaisse. Enfin, certaines des ouvertures sont aussi larges du côté lymphatique que du côté péritonéal.

En résumé, du côté du péritoine, il y a des orifices permanents, bordés par des cellules spéciales, tandis que du côté lymphatique nous trouvons tous les intermédiaires depuis l'occlusion complète jusqu'à une ouverture à peu près égale à celle de l'autre face. Il ne s'agirait donc pas là, comme nous l'avons déjà dit (voy. *Progrès médical*, 1875, p. 55), d'un orifice béant toujours ouvert, mais d'une sorte de soupape à lèvres mobiles que les cellules lymphatiques peuvent écarter et dépasser pour franchir la membrane rétro-péritonéale et arriver dans la citerne lymphatique[1].

1. Schweigger-Seidel et Dogiel, qui ont les premiers décrit ces orifices en 1867 (*loc.*

Chez les mammifères, on rencontre aussi des communications directes entre les cavités séreuses et les vaisseaux lymphatiques. Ces communications, déjà admises par Bichat (voy. p. 298), ont été complètement démontrées par Recklinghausen pour le centre phrénique (voy. p. 514).

Puits lymphatiques. — Nous ne reviendrons sur la disposition histologique du centre phrénique du lapin qu'autant qu'il sera nécessaire pour la discussion de certains faits relatifs, d'une part à la communication de la cavité péritonéale avec les vaisseaux lymphatiques, et de l'autre aux rapports de continuité entre les vaisseaux lymphatiques et les prétendus canalicules du suc.

Nous avons montré (p. 517) que, sur la face péritonéale du centre phrénique, il existe, au niveau des fentes intertendineuses, des orifices, habituellement fermés par de petites cellules qui peuvent être déplacées. Pour s'en assurer et en même temps pour suivre d'une manière exacte le rapport des ouvertures avec les fentes, qui correspondent bien aux lymphatiques, ainsi que l'avait déjà établi l'expérience de Ludwig et Schweigger-Seidel[1], il convient d'avoir recours à la méthode suivante :

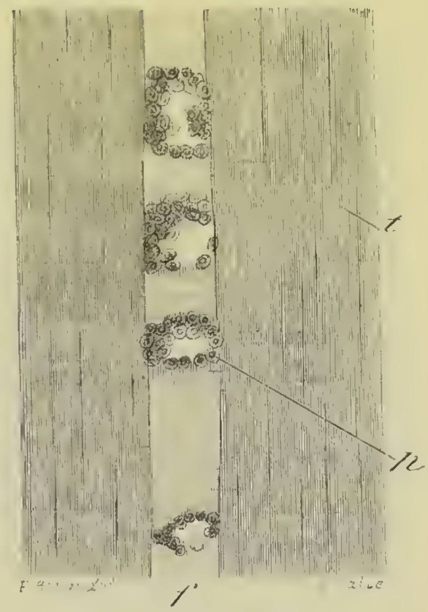


Fig. 255. — Centre phrénique du lapin, fixé par l'acide osmique, vu par sa face péritonéale. — *f*, fente lymphatique; *t*, tendon; *p*, puits lymphatique. — 120 diam.

Commençons par préparer un large tube de verre ouvert à ses deux extrémités, ou, ce qui est mieux encore, le goulot d'un flacon dont le fond a été détaché, et d'une dimension telle que nous puissions y adapter et y fixer le centre phrénique au moyen d'un lien circulaire, comme s'il était une membrane à dialyser. Le lapin étant sacrifié, on enlève le diaphragme avec beaucoup de soin et on le dispose sur le tube de façon que sa face péritonéale soit en dehors. On verse alors dans ce petit appareil, dont le fond est formé par le centre phrénique, une solution de nitrate d'argent à 1 pour 1000 et on le plonge dans une autre solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Sous l'influence du courant endosmotique qui s'établit, les puits et les vaisseaux lymphatiques, traversés par la solution d'argent, sont complètement imprégnés, de telle sorte qu'au bout d'une demi-heure la membrane, séparée, lavée à l'eau distillée, montée dans le baume du Canada après avoir été soumise à l'action successive de l'alcool

citat.), avouent très nettement qu'ils n'ont pu se rendre compte du rapport de ces deux épithéliums l'un avec l'autre. Ils croient à des ouvertures toujours béantes. D'un autre côté, Tourneux, postérieurement aux recherches que j'ai publiées, affirme qu'il n'y a aucune ouverture. Comme on le voit, l'une et l'autre de ces opinions sont trop exclusives.

1. *C. Ludwig* et *F. Schweigger-Seidel*, Ueber das Centrum tendineum des Zwerchfelles (*Arbeiten aus dem physiol. Laborat. zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig*), 1867, t. I, p. 174.

et de l'essence de girofle, fournit une préparation démonstrative. La face péritonéale étant dirigée du côté de l'observateur, on y distinguera successivement, en abaissant l'objectif : les orifices des puits lymphatiques presque complètement débarrassés des cellules qui les obstruaient, le trajet perpendiculaire ou oblique de ces puits et finalement l'espace lymphatique situé dans la fente, reconnaissable à son endothélium caractéristique, à dentelures mousses.

En employant le nitrate d'argent suivant un autre procédé, on peut reconnaître également bien les puits lymphatiques, leurs rapports avec les fentes, et faire en outre l'observation des vaisseaux lymphatiques de la face pleurale : Le centre phrénique, lavé rapidement à l'eau distillée, est placé à l'abri de la lumière dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500, pendant une heure. Il en est retiré, lavé de nouveau, conservé pendant quinze à vingt heures dans de l'eau distillée à laquelle on ajoute, et ceci est important surtout dans la saison chaude, quelques gouttes d'une solution d'acide phénique à 1 pour 100, afin d'éviter le développement des microphytes. La macération dans l'eau après l'action du nitrate d'argent a pour but de favoriser la séparation de l'endothélium qui recouvre les deux faces de la membrane. Pour l'en détacher, il suffit alors de l'agiter dans l'eau ou de la toucher délicatement avec un pinceau.



Fig. 256. — Centre phrénique du lapin, imprégné par le nitrate d'argent. La membrane est vue par sa face pleurale. — L, vaisseaux lymphatiques ; F, fentes lymphatiques. — 20 diam.

Si, dans ces conditions, le centre phrénique est examiné par sa face pleurale à l'œil nu ou à la loupe, on y observe des vaisseaux lymphatiques qui se détachent en clair sur un fond brun. Ils forment des arborisations, dont les branches s'anastomosent souvent les unes avec les autres, et dont les dernières ramifications se perdent dans un système de bandes claires parallèles entre elles, qui correspondent aux fentes intertendineuses (fig. 256).

A un grossissement de vingt diamètres, il est possible d'étudier les rapports de ces différents vaisseaux et de s'assurer qu'ils constituent en réalité un système continu dans lequel, à un grossissement plus considérable, on reconnaît l'endothélium caractéristique des capillaires lymphatiques. C'est ce système qui se montre rempli de bleu de Prusse, lorsque, pour l'injecter, on suit le procédé de Ludwig et Schweigger-Seidel (voy. p. 514).

Il nous reste à considérer la communication des vaisseaux lymphatiques avec les prétendus canaux du suc. C'est là un point qu'il convient d'exposer et de discuter aussi complètement que possible, parce qu'il forme la base de la théorie de Recklinghausen, qui est admise encore aujourd'hui par son auteur et par quelques histologistes.

Nous avons vu (p. 290) que la surface des tendons élémentaires de la queue des rats est recouverte de cellules connectives plates, au-dessus desquelles il existe, au niveau des gaines synoviales, un revêtement endothélial continu. Ces cellules connectives, sur les tendons imprégnés d'argent, sont ménagées en blanc; leur contour est le plus souvent irrégulier et muni de prolongements qui parfois se confondent avec des prolongements semblables venus d'une cellule voisine[1].

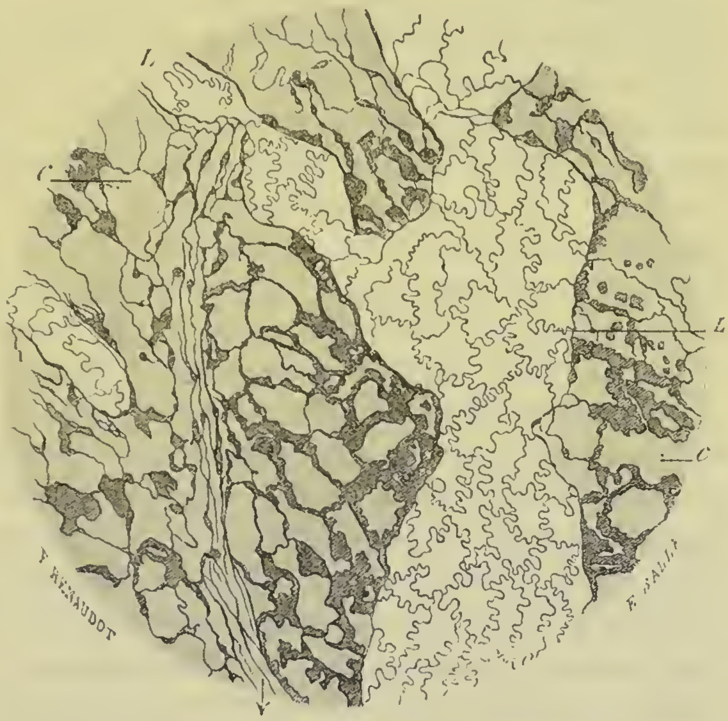


Fig. 257. — Centre phrénique du lapin, imprégné par le nitrate d'argent. La membrane est vue par la face pleurale. — L, vaisseau lymphatique revêtu de son endothélium caractéristique; c, cellules de tissu conjonctif ménagées par le dépôt d'argent. — 110 diam.

Les fibres radiées du diaphragme (v. p. 515) ne sont pas de simples faisceaux de tissu conjonctif; ce sont de petits tendons semblables à ceux de la queue des rats; et, de même que ces derniers, ils sont recouverts de cellules connectives plates, qui, dans les préparations colorées à l'argent, apparaissent comme des figures claires. Ces figures, irrégulièrement étoilées, présentent des noyaux à leur centre, ainsi qu'on peut le reconnaître dans les préparations imprégnées d'argent, colorées au picrocarminate et montées dans la glycérine additionnée d'acide oxalique. Leur nombre, leur forme et leur groupement sont très variables. Il existe des cellules semblables dans le tissu conjonctif diffus de la face pleurale du diaphragme (voy. fig. 257).

Ce sont ces cellules ménagées par l'argent (comme le sont toutes les cellules, celles des endothéliums par exemple) que Recklinghausen a prises pour des canaux remplis de plasma.

Les figures que le nitrate d'argent fait apparaître dans le tissu conjonctif

1. Il y a des cellules plates irrégulières ménagées par l'imprégnation d'argent, non-seulement à la surface des tendons élémentaires de la queue des rats, mais sur toutes les surfaces tendineuses, sur toutes les aponévroses, en un mot sur toutes les membranes formées de tissu connectif. Le tissu conjonctif sous-cutané lui-même fournit des images semblables.

sont loin d'être aussi régulières et aussi souvent anastomosées les unes avec les autres que Recklinghausen l'a décrit et figuré. Souvent elles sont séparées les unes des autres par de simples lignes d'imprégnation semblables à celles qui se produisent entre les cellules endothéliales, et, lorsqu'elles semblent se continuer avec un vaisseau lymphatique caractérisé par son endothélium spécial, il s'agit d'un de ces hasards de préparation si communs dans les imprégnations d'argent, comme il ressort des observations de Schweigger-Seidel[1].

Le nitrate d'argent, imprégnant le tissu connectif et toutes les substances intercellulaires en général, ménage les cellules, mais il ne les épargne pas d'une manière absolue ; quelquefois l'imprégnation les envahit complètement, d'autres fois elle les atteint au niveau de leur bord et les fait paraître beaucoup plus irrégulères encore qu'elles ne sont normalement. Si nous ajoutons que parfois il y a des places où la substance intercellulaire n'est pas imprégnée, on devra reconnaître que la méthode de l'argent, excellente dans l'étude des endothéliums et de quelques autres tissus dont on connaît la disposition fondamentale, est défectueuse lorsque l'on se propose de débrouiller une structure aussi complexe que celle du tissu connectif.

Dans le tissu conjonctif sous-cutané, il n'existe pas non plus de canaux du suc, et l'analogie semble indiquer que, dans ce tissu, les derniers capillaires lymphatiques prennent naissance dans la grande cavité qu'il forme dans son ensemble; mais on n'est pas encore arrivé à le démontrer directement. Il faudrait, pour atteindre ce but, trouver une méthode qui permît de voir la communication d'un capillaire lymphatique avec l'un des interstices que laissent entre eux les faisceaux connectifs.

Injection par piqûre dans le tissu conjonctif. — Jusqu'à présent nous sommes encore obligés de nous contenter des preuves indirectes que donnent l'injection par piqûre et le cheminement vital des matières colorées. En effet, les vaisseaux lymphatiques peuvent être injectés lorsque l'on fait pénétrer une masse suffisamment fluide dans les mailles du tissu conjonctif. L'expérience réussit bien chez le chien : l'animal étant sacrifié, la peau de l'une des pattes est incisée et disséquée de manière à mettre à découvert le tissu conjonctif sous-cutané et le plan aponévrotique sous-jacent. Au moyen d'une seringue hypodermique remplie de bleu de Prusse liquide, on fait une injection inter-

1. Il y a quelques années, Schweigger-Seidel attaqua la théorie de Recklinghausen et soutint que les figures étoilées ménagées par l'argent sur la face pleurale du diaphragme sont tout simplement des cellules endothéliales. Pour le prouver, il prit une portion de la membrane imprégnée d'argent, l'appliqua par sa face pleurale sur une lame de verre, et, quand elle fut à moitié desséchée, il l'en sépara. Les cellules endothéliales restèrent adhérentes à la surface du verre et lui fournirent une préparation dans laquelle elles étaient bien distinctes, séparées par les lignes d'imprégnation. Les unes étaient entièrement claires comme dans les imprégnations ordinaires bien réussies; d'autres, au contraire, envahies plus ou moins par le dépôt d'argent, montraient dans leur intérieur une figure claire, irrégulière, souvent étoilée, comparable à celles que Recklinghausen avait décrites comme des confluents de canaux du suc. Cette expérience de Schweigger-Seidel repose sur une méthode ingénieuse, et c'est pour cela que nous la rapportons, bien que les conclusions de l'auteur soient tout à fait inexactes. Nous avons vu, en effet, que le centre phrénique, imprégné d'argent et débarrassé de son endothélium, montre encore, non seulement dans ses couches superficielles, mais même dans ses parties profondes, des figures irrégulières qui correspondent aux cellules du tissu connectif.

stitielle dans le tissu conjonctif; il se produit une boule d'œdème colorée, et parfois il s'injecte en même temps un ou deux vaisseaux lymphatiques.

On pourrait être surpris que l'expérience ne réussisse pas chaque fois qu'on la tente, si en réalité les vaisseaux lymphatiques s'ouvrent dans le tissu conjonctif aussi largement que nous le soutenons. Mais, si l'on tient compte du nombre restreint de vaisseaux lymphatiques que possède le tissu cellulaire sous-cutané, on s'expliquera facilement pourquoi l'injection interstitielle de ce tissu ne détermine pas plus souvent leur réplétion. Lorsqu'il n'y a pas eu de lymphatiques injectés, comme il arrive fréquemment, on détermine quelquefois cette injection en appuyant avec le doigt sur la boule d'œdème de manière à la déprimer et à l'étendre. En agissant ainsi, on augmente l'étendue des parties injectées, et peut-être déplace-t-on les faisceaux de manière à dégager l'ouverture naturelle de quelques vaisseaux lymphatiques.

Chez les petits mammifères (rats, souris, etc.), pour injecter le ganglion lombaire, il suffit d'enfoncer la canule de la seringue au-dessous de la peau jusqu'au voisinage du nerf sciatique et de faire pénétrer dans la cuisse environ un centimètre cube de bleu de Prusse soluble. Ce ganglion, chez les mêmes animaux ou mieux encore chez le lapin, peut aussi être injecté en profitant du cheminement vital des matières colorées. A cet effet, du vermillon en poudre impalpable est déposé au fond d'une petite incision pratiquée à la partie inférieure de la cuisse et allant jusqu'au voisinage du nerf sciatique. Huit ou dix heures après cette opération, l'animal étant sacrifié, le ganglion lombaire correspondant présente sur sa surface des îlots colorés en rouge par le vermillon, et, si on le compare à son congénère, on constate qu'il a notablement augmenté de volume, ce qu'il faut surtout attribuer, croyons-nous, à l'irritation causée par la présence du corps étranger pulvérulent.

Ces différents faits nous conduisent à soutenir que les vaisseaux lymphatiques prennent naissance dans les interstices du tissu conjonctif. Mais ce n'est encore là qu'une hypothèse, car l'injection des lymphatiques à la suite d'une piqûre ou d'une plaie du tissu conjonctif pourrait être amenée par une déchirure accidentelle de ces vaisseaux. La communication directe entre les lymphatiques et les mailles du tissu conjonctif ne sera définitivement établie que quand on aura démontré dans ce tissu des ouvertures semblables à celles qui existent entre la cavité péritonéale de la grenouille et la citerne lymphatique, entre la cavité péritonéale des mammifères et les vaisseaux lymphatiques du centre phrénique[1].

---

1. Certains auteurs soutiennent que le système lymphatique est clos à la périphérie ou qu'il prend naissance dans l'intérieur même des cellules du tissu connectif. Parmi les théories émises à ce sujet, nous devons signaler celle de J. Arnold. Cet auteur (*Ueber die Beziehung der Blut- und Lymphgefässe zu den Saftkanälchen*) (*Arch. de Virchow*, 1874, t, LXII, p. 157), reprenant une idée ancienne et cherchant à l'accommoder aux théories de Virchow et de Recklinghausen sur le tissu conjonctif, a soutenu que les vaisseaux sanguins

CHAPITRE XV

GANGLIONS LYMPHATIQUES

L'étude des ganglions lymphatiques présente des difficultés toutes spéciales. Aussi les données assez précises que nous possédons aujourd'hui sur leur structure n'ont-elles été acquises que grâce aux efforts soutenus de quelques-uns des histologistes les plus distingués de notre époque.

Parmi les anciens anatomistes, les uns, frappés du résultat obtenu par les injections, croyaient ces ganglions formés par un simple enroulement de vaisseaux lymphatiques; d'autres, au contraire, considérant spécialement leur aspect lorsqu'ils ne sont remplis d'aucune masse à injection, les regardaient comme des glandes. De là est venu le nom de glandes lymphatiques (*Lymphdrüsen*) sous lequel ces organes sont encore désignés en Allemagne. En France, on a adopté l'expression de ganglions lymphatiques, surtout depuis les travaux de Breschet, qui cependant n'en est pas l'inventeur, puisque Béclard[1] l'attribue à Chaussier[2].

Quelle que fût, du reste, la désignation employée, la plupart des auteurs ne voyaient dans les ganglions lymphatiques que des vaisseaux lymphatiques enroulés sur eux-mêmes, ou bien un grand nombre de petites cavités dans lesquelles venaient s'ouvrir les vaisseaux afférents et d'où partaient les vaisseaux efférents. Cependant Bichat avait déjà posé la question autrement. Il avait essayé sur les ganglions toute une série de réactifs : il les avait traités par l'eau bouillante, par les acides, par les alcalis, etc., et de l'ensemble de ces expériences il avait conclu qu'il devait y avoir dans ces ganglions un tissu propre placé entre les vaisseaux lymphatiques et les vaisseaux sanguins. Ce tissu serait caractérisé par des cellules (ce qui dans le langage de Bichat signifiait vésicules) remplies d'un suc spécial et qu'il comparait à celles du corps thyroïde. A la fin de sa description, Bichat s'exprime ainsi : « Chaque glande lymphatique peut être considérée comme le centre de deux petits systèmes capillaires opposés, et qui s'anastomosent ensemble. Dans l'intérieur de ces

et les vaisseaux lymphatiques ont des communications périphériques établies par l'intermédiaire des cellules du tissu connectif, qui seraient étoilées, creuses et communiqueraient les unes avec les autres. Mais Tarchanoff, dans des recherches faites dans notre laboratoire (*Des prétendus canaux qui feraient communiquer les vaisseaux sanguins avec les lymphatiques* [*Arch. de physiologie*, 1875, p. 281]), a démontré que J. Arnold s'était laissé tromper par de simples apparences liées à la diffusion des matières injectées. Il n'y a donc pas lieu de s'y arrêter plus longuement ici.

1. *Béclard*. Éléments d'anatomie générale, 1re édit., p. 415.

2. Nous avons conservé l'expression française, parce que ce nom de ganglion, appliqué aux organes dont nous nous occupons, a sur celui de glande cet avantage qu'il n'affirme rien au sujet de leur nature et de leurs fonctions; il définit simplement leur forme extérieure. Ce mot a été en effet employé d'abord par Hippocrate pour désigner certaines tuméfactions des gaines synoviales des tendons, et c'est beaucoup plus tard seulement, quand il était déjà adopté comme l'équivalent de nodosité, que Galien s'en est servi pour désigner les nodosités qui se trouvent à l'origine ou sur le trajet des nerfs.

glandes, ces rameaux très flexueux, repliés sur eux-mêmes de diverses manières, occupent une grande partie du tissu propre de ces organes, que plusieurs ont cru en conséquence n'être autre chose que l'entre-croisement des absorbants; idée qui n'est point prouvée, puisque ce tissu n'est point encore bien connu[1]. »

Les continuateurs de Bichat ne comprirent pas sa pensée; c'est ainsi que Breschet le range parmi les auteurs qui croient les ganglions lymphatiques formés par des vésicules où viennent se rendre les différents vaisseaux lymphatiques de l'organe. Il faut arriver jusqu'aux travaux de Brücke[2], en 1853, pour trouver dans la science les premières notions certaines sur le tissu propre des ganglions lymphatiques. Distinguant dans ces ganglions deux substances différentes, la corticale et la centrale ou médullaire, il reconnut dans la première l'existence de masses arrondies (cellules de Bichat, aujourd'hui follicules lymphatiques) autour desquelles seulement se fait la circulation de la lymphe. Brücke arrivait ainsi à la démonstration de ce que Bichat avait avancé sans preuves anatomiques suffisantes, à savoir que dans les ganglions il y a des corps spéciaux placés entre les canaux vasculaires.

Les recherches de Donders et de Kölliker, combinées avec celles de Brücke, concoururent à donner une notion plus exacte de la structure du tissu ganglionnaire. Ces observateurs avaient reconnu que les ganglions lymphatiques sont occupés par un réticulum formé de travées extrêmement fines dirigées dans tous les sens. Kölliker[3] crut voir que ce réticulum est formé de cellules étoilées et anastomosées entre elles, et c'est pour cela qu'il en fit un tissu *cytogène*. Enfin, His[4], en appliquant à l'étude des ganglions lymphatiques une méthode nouvelle, devenue aujourd'hui d'un usage courant en histologie, et qui consiste à chasser les cellules au moyen du pinceau en agissant sur une coupe mince du tissu immergé dans un liquide, arriva à faire une étude beaucoup plus exacte de ce réticulum. Il put reconnaître son existence dans la masse presque tout entière des ganglions et établir que le pinceau dégage d'abord certaines parties qui correspondent aux voies lymphatiques, tandis que d'autres, qui sont encore garnies de cellules, correspondent à des organes spéciaux qu'il désigna sous le nom d'ampoules dans la substance corticale et de tubes glandulaires dans la substance médullaire. Au moyen de l'imprégnation d'argent il démontra la présence d'un endothélium à la surface des follicules.

Frey[5], de son côté, arriva à des données analogues.

1. *Bichat*. Anatomie générale, 2e édit., 1812, 1re partie, t. II, p. 609.

2. *Brücke*. Ueber die Chylusgefässe und die Fortbewegung des Chylus (*Sitzungsberichte der Wiener Academie*, 1853, t. X, p. 429). — Ueber die Chylusgefaesse und die Resorption des Chylus (*Denkschriften der Wiener Academie*, 1854, t. VI, p. 129).

3. *Kölliker*, Ueber den feineren Bau und die Functionen der Lymphdrüsen. (*Verhandl. der physico-medical. Gesellsch. zu Würzburg*, 1854, t. IV, p. 107).

4. *His*. Beitraege zur Kenntniss der zum Lymphsystem gehörigen Drüsen (*Zeitschr. f. wissensch. Zoolog.*, XI, p. 1).

5. *Frey*. Traité d'histologie, trad. française, 1re édition, p. 491 et suiv.

Nous n'entrerons pas ici dans le détail des faits découverts par ces auteurs, et, dans la description de la structure des ganglions lymphatiques, nous les confondrons avec ceux que nous avons observés nous-mêmes.

Avant d'exposer les diverses méthodes à l'aide desquelles on étudie les ganglions, nous allons, pour en faire mieux comprendre la signification morphologique, revenir sur certains organes qui nous sont déjà connus.

Parmi ces organes, il convient de rappeler d'abord le grand épiploon du lapin, dont les taches laiteuses constituent des follicules lymphatiques rudimentaires. Formées essentiellement par un amas de cellules lymphatiques, elles échangent, à travers l'endothélium qui les recouvre, leur matériel nutritif et même leurs éléments cellulaires avec la lymphe péritonéale.

Une disposition analogue se montre dans le grand épiploon de la plupart des mammifères, mais c'est principalement chez le marsouin qu'il convient d'étudier cet organe au point de vue où nous nous plaçons en ce moment.

Le grand épiploon du marsouin est constitué par de grosses travées conjonctives qui y forment un réseau; dans les mailles de ce premier réseau s'en trouve un second, formé de travées beaucoup plus fines, et qui comble, en les remplissant comme d'une fine dentelle, les grandes mailles du premier. Sur les plus grosses travées de cette dentelle, au-dessous de l'endothélium qui les revêt, se trouvent disposés régulièrement des amas globuleux de petites cellules, qui ne sont autre chose que des follicules lymphatiques.

Les différents ordres de travées, ainsi que les amas de cellules dont nous venons de parler, sont disposés dans un seul plan; c'est-à-dire que leur ensemble forme une lame criblée de trous. Si nous supposons maintenant qu'au lieu d'être étendue en surface cette lame soit repliée sur elle-même de différentes façons et qu'elle soit maintenue dans cette disposition par des travées qui, sortant du plan primitif, iraient d'un des plis à l'autre, nous aurons à peu près l'analogue d'un ganglion lymphatique. Nous verrons en effet que, dans la masse globuleuse du ganglion, les follicules qui le constituent sont maintenus en place par des filaments entre-croisés et anastomosés en divers sens, venant d'une part de la profondeur de ces follicules, et allant de l'autre s'attacher à la capsule du ganglion ou aux travées qui en émanent.[1]

Au point de vue morphologique, le grand épiploon du marsouin est donc l'analogue d'un ganglion lymphatique; c'est un ganglion étalé en surface.

L'organisme nous montre des formes de transition entre ces deux dispositions extrêmes. C'est à ce point de vue que nous avons noté avec une attention particulière la disposition du repli mésopéricardique du chien (p. 513) où nous avons vu des travées se dégager du réseau, puis, après un certain trajet, ayant passé au-dessus d'un plus ou moins grand nombre de mailles, venir se confondre de nouveau avec lui.

Ces quelques considérations sur les membranes réticulées nous permettront de faire mieux comprendre la structure des ganglions lymphatiques, qui est en réalité beaucoup moins compliquée que ne le ferait croire la mul-

titude de noms employés par les auteurs pour désigner les différentes parties de ces organes.

Les ganglions lymphatiques se montrent, chez l'homme et chez les différents mammifères, au niveau des plis des grandes articulations et au voisinage des gros vaisseaux; dans les différentes régions du corps et dans les grandes cavités viscérales, à la racine des bronches, par exemple, pour la cavité thoracique. A la base du mésentère, ils forment, chez les mammifères, une masse volumineuse qui est connue sous le nom de pancréas d'Aselli.

Leur volume est très variable; en général, il est en rapport avec la taille des animaux, mais cependant chez le même animal on en rencontre de grosseur très différente.

Au premier abord, leur forme paraît présenter des différences assez notables. Ils sont tantôt globuleux, tantôt irrégulièrement prismatiques, tantôt discoïdes; mais, lorsqu'on y regarde de plus près, on reconnaît que toutes ces formes appartiennent à un type commun, le type rénal. On constate toujours en effet sur un ganglion, lorsqu'il est bien isolé, l'existence d'un hile analogue à celui du rein. Ce hile est plus ou moins accusé, plus ou moins étendu, plus ou moins profond. Il peut être comparé à une cicatrice de la peau déprimée et irrégulière. Le point où il se trouve doit être exactement déterminé par l'histologiste, car c'est d'après lui qu'il se guidera pour pratiquer des coupes dans une direction convenable.

Les ganglions lymphatiques ont un aspect granulé analogue jusqu'à un certain point à celui d'une glande acineuse. Lorsqu'ils contiennent peu de sang, comme chez des animaux tués par hémorrhagie, ils sont grisâtres à la surface, sauf au niveau du hile, où ils présentent une coloration légèrement brune; mais ils peuvent être plus ou moins rouges suivant la quantité de sang qu'ils contiennent. Chez l'homme, chez le chien et chez quelques autres animaux, les ganglions bronchiques présentent une coloration noirâtre, parfois charbonneuse.

Du reste, pour bien apprécier leur couleur, il convient d'y pratiquer des sections. Supposons que la section ait été faite à partir du hile et ait divisé le ganglion suivant son grand axe. Nous pourrons reconnaître alors que l'organe est formé de deux substances qui diffèrent assez l'une de l'autre pour qu'on les distingue nettement : l'une corticale, l'autre centrale. La substance corticale, qui existe sur toute la surface excepté au niveau du hile, est molle, pulpeuse, d'un blanc mat ou plus ou moins rosé suivant la quantité de sang qu'elle contient. Elle se limite en dehors par une série de festons convexes généralement inégaux dont les angles rentrants sont occupés par des expansions fibreuses parties de la capsule qui enveloppe l'organe. Ces cloisons semblent se prolonger dans la substance corticale pour la diviser en un certain nombre de grains aciniformes d'étendue variable. La limite interne de la substance corticale est moins nette; elle est établie par une ligne sinueuse.

La substance centrale est désignée par les auteurs sous le nom de substance

médullaire, à cause de sa situation, quand bien même sa consistance ne rappelle en rien celle de la moelle des os. Elle est plus ou moins rouge, lorsque les ganglions contiennent encore du sang; mais, lorsqu'ils sont exsangues, elle présente chez les animaux adultes une coloration d'un jaune de pigment, semblable à celle d'un foie anémique. Son aspect et sa consistance semblent dépendre d'une structure spongieuse extrêmement fine. Au niveau du hile, l'aspect du tissu est un peu différent; il paraît strié, à cause des branches vasculaires qui pénètrent dans le ganglion et des travées fibreuses qui les accompagnent.

Le rapport d'étendue entre la substance corticale et la substance médullaire est extrêmement variable. Entre les deux types opposés, le pancréas d'Aselli du chien où la substance corticale ne forme qu'une bordure mince et les petits ganglions des rongeurs où la masse de l'organe est presque entièrement constituée par de la substance corticale, on pourra rencontrer tous les intermédiaires. Il convient d'ajouter que, dans un même ganglion, la substance corticale n'a pas partout la même épaisseur, et qu'en général elle s'amincit peu à peu avant de disparaître au niveau du hile.

Ces quelques notions sur le siège, le volume, l'aspect, la couleur et la structure macroscopique des ganglions étaient indispensables; elles nous permettront de nous mieux orienter dans l'étude histologique expérimentale de ces organes.

Les premières recherches doivent être faites chez le chien, parce que les ganglions de cet animal sont volumineux et présentent une consistance très convenable. On les étendra aux animaux de boucherie, le bœuf, le mouton, le veau. Les ganglions du lapin, du cochon d'Inde, du rat ont une structure très délicate, et les préparations en sont beaucoup plus difficiles.

Pour une première expérience choisissons un chien jeune adulte. Préparons d'abord 25 à 30 centimètres cubes d'une masse d'injection au bleu de Prusse et à la gélatine (voy. p. 107). Sacrifions l'animal par la section du bulbe. Une incision étant alors pratiquée depuis la symphyse du maxillaire inférieur jusqu'au sternum, la peau de l'un des côtés et le muscle peaucier qui la double sont disséqués soigneusement et déjetés de manière à découvrir les ganglions du cou sans toucher à l'atmosphère connective qui les entoure. En dehors de la glande sous-maxillaire, il existe d'habitude deux ganglions d'un volume moyen et légèrement aplatis. Un peu plus bas, sur le côté du larynx, se rencontre un troisième ganglion, plus volumineux que les deux autres, globuleux et légèrement allongé suivant l'axe du cou. Au moyen d'une seringue hypodermique remplie de la masse de bleu de Prusse à la gélatine, pratiquons un injection interstitielle dans un des deux ganglions qui sont sur les côtés de la glande sous-maxillaire. Nous le verrons d'abord se remplir, se colorer en bleu, puis bientôt les deux autres ganglions, son voisin et celui qui est situé sur le côté du larynx, sont injectés à leur tour. Entre eux, on distingue des vaisseaux lymphatiques communiquants remplis de la masse d'injection. Celle-ci s'engage ensuite dans les vaisseaux efférents qui descendent le long de la veine jugulaire. Avant de poursuivre l'injection,

il est nécessaire de poser une ligature sur ces derniers ou de les prendre entre les mors d'une pince à pression continue. Quatre à cinq centimètres cubes de la masse sont alors parfaitement suffisants pour injecter d'une manière convenable toutes les voies lymphatiques des trois ganglions en question, celui dans lequel la canule de la seringue est engagée et les deux autres dans lesquels la matière colorée pénètre seulement par quelques-uns de leurs vaisseaux afférents.

Lorsque la gélatine a pris par le refroidissement une consistance convenable, les trois ganglions, séparés par une dissection délicate, sont détachés. Portons notre attention sur ceux qui ont été injectés par leurs voies naturelles; examinons-en la surface d'abord. Nous y reconnaîtrons de petits îlots légèrement bombés, de dimensions inégales, quelques-uns circulaires, d'autres plus irréguliers, colorés en bleu et séparés les uns des autres par espaces incolores ou beaucoup moins colorés. Au niveau du hile, ces îlots n'existent pas; ils sont remplacés par une surface colorée à peu près uniformément bleue et de laquelle se dégagent des vaisseaux efférents. Quant aux afférents, ils atteignent le ganglion sur différents points de sa surface, et en arrivant sur la capsule ils se divisent immédiatement et donnent des rameaux qui sont disposés sur l'organe à la manière des doigts de la main appliqués sur une boule.

Pratiquons maintenant sur le ganglion une coupe passant par son hile et son grand axe. La différence entre la substance corticale et la substance médullaire sera parfaitement tranchée. La médullaire est d'un bleu intense, tandis que dans la corticale il est resté des portions arrondies incolores qui correspondent aux ampoules de His et que, dans la suite de cette description, nous désignerons sous le nom de follicules. Ces follicules sont séparés les uns des autres et de la capsule par des liserés bleus qui représentent tous les chemins qui servent à la circulation de la lymphe. La capsule ne recouvre donc pas immédiatement les follicules; entre ces derniers et la capsule il se trouve un espace que la matière à injection a rempli et qui est connu sous le nom de sinus lymphatique. Les sinus des follicules voisins communiquent largement les uns avec les autres, mais cependant il existe entre eux des cloisons qui, parties de la capsule, gagnent les régions profondes de l'organe; ces cloisons ne se laissent pas pénétrer par la masse colorée, et c'est la raison pour laquelle la surface du ganglion paraît formée par autant d'îlots bleus, séparés les uns des autres par des bandes sinueuses incolores ou faiblement colorées.

Pour acquérir des notions plus exactes sur les différentes parties d'un ganglion ainsi injecté, il convient d'en faire des coupes et de les examiner au microscope. Dans ce but, l'organe injecté doit être durci soit au moyen du liquide de Müller d'abord et de l'alcool ensuite, soit seulement avec de l'alcool. Comme ces coupes doivent avoir une direction bien déterminée et comprendre toute l'épaisseur du ganglion, il convient de les faire au microtome. Elles sont recueillies dans l'eau, placées pendant quelques minutes dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100, lavées de nouveau

et montées en préparations persistantes soit dans la glycérine, soit dans le baume du Canada, suivant les indications classiques.

Dans ces préparations, à un grossissement de 25 à 50 diamètres et même simplement à la loupe, nous distinguerons la capsule et les cloisons qui en partent pour gagner le hile, reconnaissables à leur coloration rouge et à leur aspect fibreux, les divers chemins de la lymphe remplis de la matière à injection bleue et la substance folliculaire colorée en rouge comme la capsule et les travées fibreuses, mais s'en distinguant par un granulé spécial dû à la présence d'un grand nombre de petites cellules colorées par le carmin. Dans cette première description, nous négligeons les vaisseaux sanguins, dont nous parlerons plus tard.

Les premiers chemins de la lymphe, ceux qui émanent directement des vaisseaux afférents et qui constituent les sinus des follicules, nous sont déjà

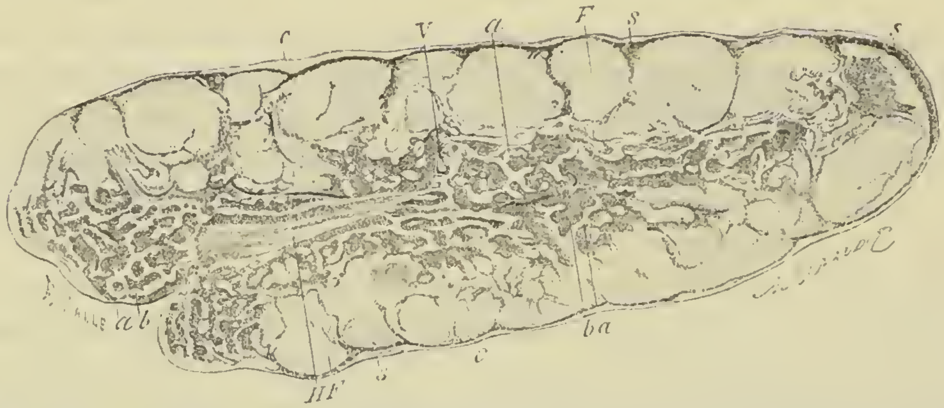


Fig. 258. — Ganglion cervical du chien. Injection interstitielle avec une masse de gélatine additionnée de bleu de Prusse soluble; durcissement dans l'alcool. Coupe passant par le hile et les pôles du ganglion. Coloration au picrocarminate; conservation dans le baume du Canada.
c, capsule; s, sinus; F, follicule; *a*, cordon folliculaire; *b*, système caverneux de la substance médullaire; V, section d'un vaisseau sanguin; HF, portion fibreuse et vasculaire du ganglion au niveau du hile. — 10 diam.

connus. Ces sinus se prolongent sur les côtés des follicules, le long des travées fibreuses qui les séparent, et, soutenus toujours par ces travées, ils débouchent dans la substance médullaire. Là, les chemins de la lymphe forment un système caverneux très complexes et très étendus; c'est pour cette raison que, sur des pièces injectées, la substance médullaire paraît à l'œil nu presque uniformément colorée. Mais au microscope et dans les coupes de l'organe teintes au carmin il n'en est plus ainsi. On peut reconnaître dans ces préparations que les chemins de la lymphe sont compris entre les travées fibreuses qui gagnent le hile et des cordons granuleux colorés en rouge, irréguliers, sinueux, qui semblent être un prolongement des follicules. En réalité, ces follicules, qui sont globuleux dans la substance corticale, se terminent profondément par une série de prolongements formés de leur substance qui pénètrent dans la partie médullaire, se contournent et s'anastomosent les uns avec les autres de manière à combler les vides laissés par le réseau caverneux des voies lymphatiques.

Nous aurons donc à considérer dans un ganglion lymphatique la capsule et les travées fibreuses qui en partent, les follicules de la substance corticale

et les cordons folliculaires de la substance médullaire, les sinus et le réseau caverneux lymphatique, enfin les vaisseaux sanguins des différentes régions du ganglion.

Capsule et travées fibreuses. — La capsule des ganglions lymphatiques doit être étudiée de préférence dans les gros ganglions périphériques; sa structure peut déjà être reconnue dans des coupes d'ensemble faites suivant le procédé indiqué précédemment. On constate ainsi qu'elle est constituée chez le chien par des faisceaux de tissu conjonctif entre-croisés dans diverses directions, entre lesquels il existe des cellules connectives ordinaires et quelques fibres élastiques. Dans les ganglions périphériques du bœuf, où elle a une beaucoup plus grande épaisseur que chez le chien, elle possède une structure plus complexe, dans laquelle il entre, comme His l'a reconnu il y a longtemps déjà, un nombre assez considérable de fibres musculaires lisses.

Pour apprécier le nombre et le rapport de ces fibres, il convient de faire des préparations spéciales. Rappelons d'abord que, la capsule étant reliée au parenchyme ganglionnaire par un nombre considérable de travées fibreuses, il est impossible de l'en séparer, comme on le fait si facilement pour le rein et d'autres organes capsulés; mais on peut l'enlever au moyen d'un trait de rasoir avec une certaine épaisseur de la substance sous-jacente, 3 ou 4 millimètres. On la met alors à sécher sur une lame de liège en suivant exactement les indications qui ont été données à propos des artères (voy. p. 428). Après dessiccation complète, des coupes pratiquées perpendiculairement à la surface sont gonflées dans l'eau, colorées au picrocarminate, étendues et fixées sur la lame de verre au moyen du procédé de la demi-dessiccation et montées en préparations persistantes dans un mélange de glycérine, acide formique, et acide picrique (voy. 429).

On y observe une couche superficielle formée uniquement par du tissu conjonctif à gros faisceaux, une couche profonde caractérisée par la présence de fibres musculaires lisses groupées en petits faisceaux de directions très variées et comprises dans les mailles d'un réseau élastique. C'est là une structure analogue à celle que l'on observe dans le canal thoracique et les gros troncs lymphatiques (voy. p. 490).

Ces préparations peuvent servir aussi à reconnaître la constitution des grosses travées fibreuses qui partent de la capsule. Elles contiennent presque toutes, à côté des artères et des veines qu'elles renferment et au milieu du tissu conjonctif qui les compose, des faisceaux de fibres musculaires semblables à ceux qui se montrent dans la couche profonde de la capsule. Les cellules musculaires de la capsule et des travées fibreuses peuvent être isolées en suivant les méthodes qui ont été indiquées page 406.

Parmi ces méthodes, la macération dans la potasse à 40 pour 100 est celle qui convient le mieux, à cause de la simplicité de l'exécution et de la rapidité avec laquelle le résultat est obtenu. Un lambeau de la capsule, muni encore du côté de sa face profonde d'une portion du parenchyme ganglionnaire, est placé dans 2 centimètres cubes de la solution de potasse. La consistance du

tissu fibreux n'est pas diminuée tout d'abord. On peut alors avec les aiguilles dégager tout le parenchyme qui double la capsule, en n'y laissant que les prolongements fibreux qui en partent. Un quart d'heure ou vingt minutes après cette première opération, le tissu est suffisamment ramolli pour que la dissociation s'en effectue facilement. Les fragments qu'elle donne, portés sur une lame de verre avec une petite quantité de la solution de potasse, recouverts d'une lamelle et examinés au microscope, montrent, sur leurs bords, des cellules musculaires plus ou moins dégagées; quelques-unes d'entre elles sont complètement isolées. Si l'on ajoute alors une goutte d'eau sur le bord de la lamelle, de manière à diluer la solution de potasse, les cellules musculaires se dissolvent, ce qui restait du tissu conjonctif disparaît, et le réseau élastique se montre alors dans toute sa pureté. Ce mode de préparation s'applique également aux travées fibreuses qui s'engagent dans le parenchyme ganglionnaire et donne pour celles-ci les mêmes résultats.

La charpente fibreuse générale du ganglion peut être reconnue dans les préparations d'ensemble dont nous avons parlé tout d'abord; mais elle est masquée plus ou moins par les autres parties ou par la masse injectée, tandis qu'elle se montre d'une manière complète et saisissante dans des coupes convenablement orientées de ganglions soumis à la congélation. Ces coupes seront faites en suivant la méthode indiquée page 72; elles seront recueillies et examinées dans l'eau. Les autres parties du ganglion y étant peu distinctes, la capsule et les travées fibreuses qui en partent et qui en s'anastomosant se dirigent vers le hile s'y reconnaîtront nettement.

Nous nous arrêterons là dans la description des travées fibreuses. Avant d'établir leurs rapports avec les différentes parties constitutives des ganglions, il est indispensable de faire l'analyse histologique du système caverneux et de la substance folliculaire.

Nous commencerons par dire quelques mots des principales méthodes qui peuvent être employées pour faire cette analyse. Il en est une qui doit être placée en première ligne, car elle a fourni les premières notions exactes sur la constitution des ganglions lymphatiques. Cette méthode consiste à chasser au moyen du pinceau les éléments qui encombrent la charpente fibro-vasculaire de ces organes, de façon à la rendre évidente dans toutes ses parties.

Le pinceau dont on fait usage pour préparer les ganglions lymphatiques doit être de très bonne qualité. Lorsqu'il a séjourné dans l'eau, les poils qui le forment doivent se réunir en pointe et posséder une élasticité assez grande pour que cette pointe se reforme et reste droite après avoir été déjetée.

C'est sur des coupes seulement qu'il convient de faire agir le pinceau. Ces coupes ne doivent pas être pratiquées dans des tissus frais; pour les réussir, il est indispensable que le ganglion ait été durci au moyen d'un réactif qui lui donne une consistance suffisante, sans pour cela fixer solidement les cellules lymphatiques qui le remplissent. Dès lors, l'alcool fort et les solutions d'acide chromique et de bichromate à dose durcissante ne conviennent pas.

C'est ce que His savait déjà, et il a recommandé d'employer un mélange d'alcool et d'eau dont il n'indique pas exactement les quantités relatives, mais qui serait dans des proportions telles qu'il donnerait aux ganglions une consistance bonne pour la coupe, tout en n'empêchant pas l'action ultérieure du pinceau.

Il y a déjà plusieurs années que j'emploie, pour atteindre le même but, une solution concentrée d'acide picrique, dans laquelle l'organe doit séjourner vingt-quatre heures seulement. Des coupes minces peuvent alors être pratiquées, et, lorsqu'elles ont été placées dans l'eau durant quelques minutes, le pinceau exerce sur elles une action très convenable. Cependant ce procédé présente quelques difficultés dans son application : la confection des coupes est délicate et le traitement au pinceau est assez laborieux. J'ai dû chercher une autre méthode, sinon pour donner à l'observation une plus grande exactitude, au moins pour rendre la préparation plus facile, et voici celle que je recommande :

Le ganglion est placé pendant vingt-quatre heures dans de l'alcool au tiers (voy. p. 68), de là il est porté dans une solution de gomme arabique très légèrement sirupeuse, où il séjourne encore pendant vingt-quatre heures. Plongé alors dans l'alcool fort, il y prend une consistance suffisante pour que l'on puisse le monter dans un microtome et y faire des coupes fines convenablement orientées, passant (s'il s'agit par exemple d'un des ganglions aplatis du chien situés au voisinage de la glande sous-maxillaire) par le hile et divisant le ganglion soit suivant son équateur, soit suivant un de ses méridiens. A mesure qu'elles seront détachées, les coupes seront reçues dans de l'alcool. Au moyen du pinceau, prenons-en une pour la porter dans un baquet de verre à fond plat, contenant de l'eau distillée sous une couche de 2 à 3 centimètres et reposant sur une surface noircie, de manière que la lame de tissu, transparente et blanchâtre, s'y distingue nettement. Nous la verrons bientôt se gonfler, s'étendre d'une manière régulière et gagner le fond du vase. Deux minutes à peu près suffiront pour que la gomme qui infiltrait les éléments soit à peu près dissoute et pour que l'action du pinceau soit efficace.

Nous devons prévenir le lecteur qu'il est indispensable de suivre maintenant d'une manière exacte les préceptes que nous allons indiquer si l'on veut éviter de perdre du temps et d'altérer la préparation. Lorsque la coupe repose sur le fond du vase, on l'étale en la touchant avec la pointe du pinceau sur un grand nombre de points de sa surface, mais très délicatement, et en ayant bien soin de ne pas produire dans le liquide de mouvements capables de la déplacer. Cette première manœuvre a pour but de la faire adhérer à la surface du verre sur laquelle elle est placée, et déjà, en la mettant en pratique, on s'aperçoit que le tissu perd de son opacité et prend l'apparence d'une dentelle.

Si alors, la coupe étant fixée par l'adhérence moléculaire, on exerce une action plus énergique, les différents points de sa surface deviennent très franchement rétiformes, et finalement on obtient une membrane mince, délicate comme une toile d'araignée, soutenue par un cercle fibreux repré-

sentant la section de la capsule du ganglion et parcourue en différents sens par les cloisons arborisées et anastomosées qui en émanent. Cette membrane est alors conduite sur une lame de verre aux trois quarts plongée dans le liquide et soumise telle quelle à l'examen microscopique, ou bien elle est colorée auparavant par le carmin, le rouge d'aniline ou l'hématoxyline. Cette dernière substance colorante est préférable. On l'emploie dans sa solution habituelle (voy. p. 91) et on la fait agir sur la préparation convenablement étalée et fixée sur la lame de verre au moyen de la demi-dessiccation; lorsque, au bout de quelques minutes, une teinture suffisante est produite, on lave largement, et finalement on monte la préparation soit dans la glycérine, soit dans le baume du Canada ou la résine dammare, après l'avoir déshydratée au moyen de l'alcool.

Lorsque presque toutes les cellules lymphatiques ont été chassées par le pinceau, ce qui s'obtient très facilement au moyen de la dernière méthode que nous venons d'indiquer, il ne reste du ganglion que la charpente fibreuse et vasculaire, et un réticulum formé de travées délicates, anastomosées dans toutes les directions, limitant des mailles qui, avant ce traitement, étaient comblées plus ou moins par des éléments cellulaires.

Si l'action du pinceau n'a pas été complète, il peut se faire que les sinus de la substance corticale et le réseau caverneux de la substance médullaire soient seuls dégagés complètement, tandis que les follicules et les cordons folliculaires sont encore encombrés de cellules lymphatiques. Dès lors, les deux systèmes qui se partagent le ganglion, le caverneux et le folliculaire, sont bien distincts l'un de l'autre à un faible grossissement, surtout lorsque les préparations ont été colorées. Ces préparations sont fort instructives. Si on les compare à celles dont nous avons parlé tout d'abord, obtenues après l'injection des chemins de la lymphe (système caverneux) au moyen du bleu de Prusse, on acquiert aisément une notion exacte sur les parties constitutives des ganglions et sur leur distribution. En effet, tandis que dans les premières préparations, celles que nous venons d'obtenir au moyen du pinceau, les follicules et les cordons folliculaires tranchent par leur opacité et leur coloration sur les sinus et les espaces du réseau caverneux médullaire, dans les secondes, tous les chemins de la lymphe étant au contraire colorés en bleu, les masses folliculaires s'accusent par l'absence de couleur, ou par une coloration rouge si elles ont été traitées par le carmin.

Dans le cas où l'expulsion des cellules lymphatiques a été complète, ce qui, nous le répétons, s'obtient facilement après l'action de l'alcool au tiers, de la gomme et de l'alcool, on peut encore distinguer l'un de l'autre le réseau caverneux et la substance folliculaire, soit à la forme du réticulum spécial à chacun d'eux, soit à la présence de nombreux vaisseaux dans les régions folliculaires, tandis que le système caverneux en est à peu près dépourvu. La différence dans la forme du réticulum est fort accusée, mais nous ne pourrons la faire saisir qu'après avoir donné une description de ce réticulum dans l'un et l'autre système (le système folliculaire et le système caverneux). Nous indiquerons à mesure les méthodes spéciales qu'il convient

d'employer pour la solution des problèmes soulevés par les observations que nous allons faire.

Système caverneux. — Lorsque, la coupe étant perpendiculaire à la surface du ganglion et passant par le hile, le système caverneux est dégagé par l'action du pinceau, tandis que le système folliculaire est encore plus ou moins encombré de cellules lymphatiques, les cavités qui le constituent se montrent traversées dans diverses directions par des fibres délicates anastomosées les unes avec les autres.

Dans les sinus, presque toutes ces fibres sont étendues entre ce que l'on pourrait appeler le feuillet folliculaire ou viscéral du sinus et son feuillet pariétal ou capsulaire, et elles forment des cordages tendineux qui semblent destinés à maintenir le follicule dans ses rapports avec la capsule, tout en permettant à la lymphe de circuler à sa surface. Dans leur trajet, les fibres du sinus, conservant la direction générale que nous venons d'indiquer, se divisent, s'anastomosent les unes avec les autres et forment un réticulum dont les mailles sont dans tous les plans. Sur les faces latérales des sinus, là où ils sont séparés les uns des autres par les cloisons fibreuses émanées de la capsule, il existe un réticulum dont la disposition est semblable. Plus profondément, lorsque la cavité du sinus, se poursuivant dans la substance médullaire, a donné naissance au réseau caverneux lymphatique, on peut reconnaître, dans les points où les travées sont coupées longitudinalement, l'existence, entre ces travées et les cordons folliculaires, d'un réticulum qui, par la grosseur et la direction de ses fibres, rappelle celui des sinus. Lorsque les grosses travées sont coupées perpendiculairement à leur direction, on peut remarquer qu'elles occupent le centre d'un conduit du système caverneux et que de toute leur périphérie se dégagent en rayonnant les fibres du réticulum qui, après s'être divisées et anastomosées, vont s'attacher aux cordons folliculaires les plus voisins. Les différents cordons folliculaires sont donc maintenus dans leur situation respective par des milliers de fibres qui les relient à la grosse charpente du ganglion.

Si les coupes faites après l'action successive de l'alcool au tiers, de la gomme et de l'alcool ont été presque entièrement dégagées par le pinceau et ensuite colorées au moyen de l'hématoxyline, les fibres du réticulum du système caverneux apparaissent colorées en violet plus ou moins foncé, et l'on ne distingue de noyaux ni dans leur intérieur, ni aux points où elles s'anastomosent, ni à leur surface. Mais, dans les régions où l'action du pinceau a été moins complète, ces fibres présentent en leur milieu ou sur leurs côtés des noyaux fortement colorés.

Lorsque le ganglion a été plongé d'emblée dans l'alcool fort pendant vingt-quatre heures, les coupes que l'on en fait, après avoir été de même traitées par le pinceau et colorées à l'hématoxyline, montrent toutes les fibres du réticulum pourvues de noyaux.

On arrive à peu près au même résultat lorsque, au lieu de l'alcool fort, on a employé l'acide picrique pour faire durcir le ganglion ; cependant, après l'action de ce réactif, l'expérimentateur, suivant qu'il fera agir plus ou moins

le pinceau, pourra obtenir à volonté le réticulum du système caverneux muni ou dépouillé de la plupart de ses noyaux.

Quand on se propose de conserver tous les noyaux du réticulum, il faut avoir recours à la méthode suivante :

Un ganglion étant enlevé à un animal encore chaud, on enfonce au milieu de sa masse la canule d'une seringue hypodermique au moyen de laquelle on y injecte environ un centimètre cube d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Ce liquide se répand dans le système caverneux, y circule, en chasse la plupart des éléments lymphatiques et consolide dans leur situation les éléments cellulaires fixes du tissu. Après l'injection interstitielle d'acide osmique, le ganglion est placé dans l'eau durant une demi-heure, puis mis à durcir dans l'alcool fort, et, si le lendemain le durcissement n'est pas suffisant, on emploie la gomme et l'alcool. On y pratique alors des coupes qui doivent être extrêmement fines, et qui, après avoir été agitées dans l'eau avec le pinceau, montrent d'une manière parfaitement nette le réticulum du système caverneux avec ses noyaux que l'on peut rendre plus évidents encore en les colorant soit avec le picrocarminate, soit avec la purpurine.

La possibilité d'obtenir des préparations où le réticulum des chemins de la lymphe se montre tour à tour avec de nombreux noyaux ou sans aucun de ces éléments suffirait à établir que ces noyaux ne sont pas situés dans l'épaisseur des travées du réticulum, comme on le croyait jadis, mais à leur surface, et dès lors nous sommes conduit à faire à leur sujet une nouvelle hypothèse que voici :

Ces noyaux appartiennent à des cellules endothéliales qui se moulent exactement sur les fibres du réticulum, à la manière des cellules endothéliales du grand épiploon.

Déjà, dans les préparations obtenues par injection interstitielle d'acide osmique et coloration au picrocarminate, ces noyaux se montrent avec les caractères des noyaux endothéliaux. Ils se présentent comme des corps ovalaires, possédant un ou deux nucléoles bien marqués, ayant leur grand axe parallèle à la direction des fibres sur lesquelles ils semblent simplement appliqués. Mais, pour démontrer nettement l'existence de cet endothélium, il faut avoir recours à l'imprégnation d'argent. Comme l'application de ce réactif sur une surface de coupe ne nous avait pas donné de bons résultats, nous avons tenté la méthode suivante, au moyen de laquelle nous avons obtenu des préparations démonstratives :

Dans un ganglion lymphatique enlevé à un chien que l'on vient de sacrifier, on pratique, au moyen d'une seringue hypodermique munie d'une canule en or, une injection interstitielle d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. On le durcit ensuite au moyen de la congélation (voy. p. 71) et on y pratique des coupes fines qui sont placées dans l'eau distillée.

La solution de nitrate d'argent, comme celle d'acide osmique, dégage les espaces caverneux. Elle fixe les éléments cellulaires qui appartiennent aux fibres du réticulum et en dessine les limites en imprégnant la substance

intercellulaire. On peut faire agir le pinceau pour étendre la préparation et enlever délicatement, sans détacher les cellules endothéliales, les quelques éléments lymphatiques qui restent dans les voies de la lymphe. La coupe, montée dans la glycérine et examinée à un grossissement convenable, montre, à la surface des travées fibreuses de la charpente et sur les fibres du réticulum (fig. 259), des lignes d'imprégnation qui donnent une image comparable à celle du grand épiploon du chien traité par l'argent (voy. 504). Elles n'en ont certainement pas toute la régularité, mais elles n'en sont pas moins démonstratives.

Lorsque la coupe a ménagé la surface d'un cordon folliculaire, on voit souvent celle-ci recouverte du dessin endothélial. Les chemins de la lymphe dans la substance médullaire du ganglion sont donc limités par le revêtement endothélial des travées de la charpente, d'une part, et, de l'autre, par celui des cordons folliculaires. Du reste, ces deux revêtements, se poursuivant sur les fibres du réticulum, s'unissent, se confondent et constituent, en réalité, une seule membrane endothéliale lymphatique.



Fig. 259. — Substance médullaire d'un ganglion lymphatique sus-hyoïdien du chien. Injection interstitielle d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500. Congélation. Coupe. Action légère du pinceau. Conservation dans la glycérine.
F, travées fibreuses de la grosse charpente du ganglion; L, lignes intercellulaires de l'endothélium dessinées par le nitrate d'argent; *f*, *f*, réticulum de la substance caverneuse (chemins de la lymphe) dont les travées montrent des lignes intercellulaires imprégnées d'argent; *c*, cordons de la substance folliculaire coupés transversalement; *m*, limite des cordons folliculaires. — 400 diam.

On peut mettre facilement en évidence l'endothélium des sinus au moyen de l'imprégnation directe. Il suffit pour cela de plonger une solution de nitrate d'argent à 1 pour 300 ou à 1 pour 500 des ganglions lymphatiques du lapin, dont la capsule est très mince et se laisse facilement et rapidement traverser par la solution métallique. Lorsque l'imprégnation est produite, les organes sont placés dans l'eau distillée et soumis à l'action de la lumière; d'un trait de rasoir, on enlève une partie mince de leur surface que l'on étale sur une lame de verre. On obtient ainsi des préparations qui, éclaircies par la glycérine ou l'essence de girofle, laissent voir, au niveau des follicules, une double couche endothéliale. L'une correspond au feuillet capsulaire et l'autre au feuillet folliculaire du sinus.

Recklinghausen[1] a obtenu des résultats analogues en injectant la solution de nitrate d'argent dans les vaisseaux afférents, et il a pu déterminer ainsi que l'endothélium de ces vaisseaux se poursuit dans les sinus.

Nous devons maintenant revenir au réticulum du système caverneux, pour donner quelques renseignements sur la constitution de ses fibres ou trabécules.

Quel que soit le mode de préparation employé, lorsqu'elles sont complètement dégagées par le pinceau, ces fibres paraissent avoir elles-mêmes une constitution fibrillaire, et en réalité elles sont composées de fibrilles connectives ou de petits faisceaux de fibrilles qui s'unissent ou se séparent au niveau des anastomoses; elles se comportent, en un mot, comme les petits faisceaux des travées du grand épiploon (voy. fig. 142, p. 505).

Les trabécules du réticulum caverneux prennent naissance sur les travées de la charpente, et les fibres qui les constituent semblent être une émanation de ces dernières. On ne doit donc pas les considérer comme un système à part; elles font partie de l'ensemble connectif du ganglion. Elles ne s'arrêtent même pas à la surface des follicules ou des cordons folliculaires. Après avoir atteint cette surface, elles la dépassent et vont concourir à la formation du réticulum de la substance folliculaire, que nous allons étudier maintenant.

Substance folliculaire. — La substance folliculaire présente la même structure dans les follicules et dans les cordons folliculaires. Cela n'a pas lieu de nous surprendre, puisque nous savons maintenant que ces cordons doivent être considérés comme de simples expansions des follicules.

Les méthodes qui nous ont servi à étudier le système caverneux du ganglion doivent être appliquées également à l'analyse des parties folliculaires. Parmi ces méthodes, il y en a deux auxquelles nous donnerons la préférence : celle de l'alcool au tiers (voy. p. 521) et celle des injections interstitielles d'acide osmique (p. 524).

A l'aide de la première, on peut arriver à dégager les follicules et les cordons folliculaires assez complètement pour mettre en évidence, au moins dans certaines régions, un réticulum pur de tout mélange. Lorsque la préparation a été colorée à l'hématoxyline et montée dans le baume du Canada ou la résine dammare, on obtient des images complètes et fort élégantes.

C'est dans ces préparations, à la limite des espaces caverneux et de la substance folliculaire, que l'on peut suivre exactement le passage des fibres du réticulum du premier système dans celles du second. Cette limite est très nettement marquée : les fibres du réticulum du système caverneux viennent s'étaler à la surface du follicule et forment en s'y anastomosant une sorte de natte serrée qui enveloppe le follicule et sur laquelle est appliqué l'endothélium que nous a révélé le nitrate d'argent. Il existe à ce niveau une continuité évidente entre le réticulum caverneux et le réticulum folliculaire, car les fibrilles du second sont ou bien une émanation directe de celles du premier que l'on voit se continuer sans interruption à travers

1. *Recklinghausen*, Das Lymphgefässystem (*Manuel de Stricker*, p. 243).

la natte périfolliculaire, ou bien elles en proviennent indirectement par l'intermédiaire de cette natte elle-même.

En pénétrant dans le follicule, les fibres deviennent plus grêles et forment par leurs anastomoses des mailles plus étroites. Aussi les cellules lymphatiques qui y sont emprisonnées se laissent-elles plus difficilement chasser que celles qui remplissent les espaces caverneux. Il faut, par conséquent, une action plus prolongée du pinceau pour les enlever, et c'est pour cela que les noyaux qui appartiennent en propre à ce réticulum sont presque toujours détachés et expulsés en même temps[1].

Pour enlever toutes les cellules lymphatiques, en respectant les éléments cellulaires du réticulum, et pour démontrer, par conséquent, l'existence de ces derniers, il faut avoir recours à la seconde méthode, celle des injections interstitielles d'acide osmique, en suivant les indications qui ont été données page 524. La solution injectée qui, dans les espaces caverneux, chasse une partie des cellules lymphatiques, laisse en place celles de ces cellules qui occupent la substance folliculaire; mais elle pénètre dans cette substance par diffusion et en consolide le réticulum sans immobiliser pour cela les éléments lymphatiques, de telle sorte qu'au moyen du pinceau on peut, en agissant sur des coupes très minces, les expulser complètement. Il est rare que toutes les parties de la substance folliculaire, surtout dans les follicules proprement dits, soient convenablement modifiées par l'acide osmique; il pourra même se faire que certaines d'entre elles n'aient pas été atteintes. Dès lors, les préparations ne seront pas bonnes pour l'observation dans toute leur étendue,

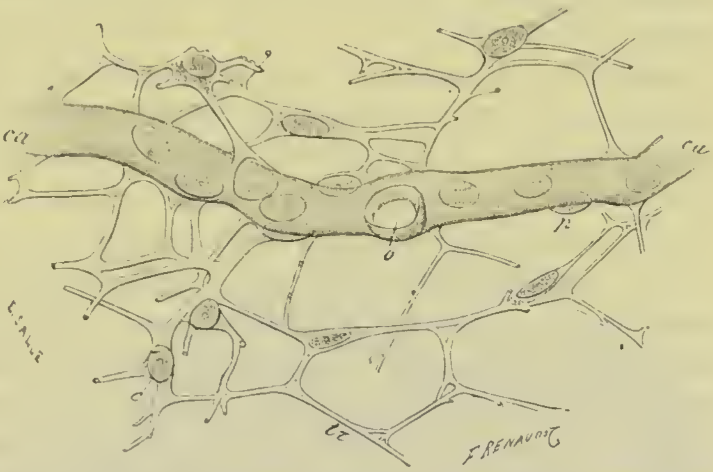


Fig. 240. — Tissu conjonctif réticulé d'un follicule du ganglion lymphatique du chien, dégagé au pinceau sur des coupes faites après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Conservation dans la glycérine. — *ca*, vaisseau capillaire; *o*, section transversale d'un vaisseau capillaire anastomosé avec le capillaire *ca*; *tr*, travées du réticulum; *c*, noyaux des cellules endothéliales qui recouvrent le réticulum; *p*, noyaux des cellules endothéliales appliquées sur le capillaire. — 600 diam.

1. En 1871, j'ai communiqué à la Société de biologie (*Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de biologie*, 1871, p. 95, et *Gazette médicale*, même année) le résultat de mes premières recherches sur la structure du tissu conjonctif réticulé des ganglions lymphatiques. Il résultait de ces recherches que les noyaux de ce réticulum sont appliqués à la surface des travées et appartiennent à des cellules endothéliales qui les revêtent. Depuis lors, Bizzozero (*Sulla struttura delle ghiandole linfatiche*. Communicat. letta nell' adunanza del Reale instituto Lombardo, il 25 gennaio 1872) est arrivé au même résultat.

Les connaissances que nous avons aujourd'hui sur la structure du réticulum des ganglions lymphatiques, tant dans la substance folliculaire que dans le système caverneux, font rentrer ce réticulum dans le type général du tissu conjonctif, tel que je l'ai compris il y a longtemps déjà et tel que je l'ai exposé dans le cours de cet ouvrage.

mais dans un grand nombre de points il sera facile de reconnaître, sur les fibres du réticulum complètement dégagées, en employant un fort grossissement : 1° que les noyaux sont appliqués à la surface des fibrilles; 2° que ces fibrilles en s'anastomosant ne se fondent pas les unes avec les autres, mais sont simplement accolées, comme dans le réticulum du système caverneux et dans le réseau du grand épiploon; 3° que les anastomoses de fibrilles se font suivant tous les plans.

La structure du réticulum folliculaire est donc semblable à celle du réticulum caverneux[1]. Il y a cependant quelques différences, mais elles portent seulement sur le diamètre des fibrilles et la largeur des mailles. Notons encore que dans la substance folliculaire il existe de nombreux vaisseaux sanguins capillaires lui appartenant en propre, tandis que le système caverneux en est dépourvu.

Vaisseaux sanguins. — Les vaisseaux sanguins des ganglions lymphatiques peuvent être reconnus dans les préparations dont nous avons déjà parlé dans ce chapitre. Nous aurons à revenir sur certaines des dispositions qu'ils y présentent; mais auparavant nous devons donner quelques indications sur les procédés à l'aide desquels on les injecte.

Il est possible de découvrir dans le hile des gros ganglions du bœuf et du chien une des artères et d'y adapter une canule, tandis que les autres vaisseaux sanguins sont liés méthodiquement; la masse à injection sera alors poussée, soit avec une seringue, soit au moyen d'un appareil à pression continue. Mais c'est là une opération délicate qui n'est pas toujours suivie de succès, et dès lors il est préférable d'injecter un petit animal tout entier, ou une section vasculaire étendue dans laquelle sont compris des ganglions lymphatiques. Si l'on opère sur le chat et le lapin, les injections générales sont à recommander. Il convient de les limiter à la tête de l'animal, si le chien a été choisi par l'expérimentateur : la canule ayant été fixée dans l'une des carotides, une ligature d'attente est placée sur la veine jugulaire correspondante; tous les autres vaisseaux du cou (artère carotide et veine jugulaire du côté opposé, artères et veines vertébrales, etc.) sont convenablement ligaturés. La tête de l'animal étant ensuite séparée aussi près du tronc que possible, on cautérise au moyen du fer rouge ou de l'eau bouillante toutes les parties molles contenant des vaisseaux par lesquels la masse colorée pourrait s'échapper. Lorsque toutes ces précautions auront été prises, on fera l'injection. Nous ne reviendrons pas sur les autres détails de l'opération, nous renvoyons pour cela aux méthodes générales, page 109.

1. Le réticulum de la substance caverneuse et de la substance folliculaire des ganglions a été découvert par Donders et par Kölliker. Ce dernier auteur, croyant qu'il était entièrement constitué par des cellules étoilées, ramifiées, anastomosées les unes avec les autres, lui avait donné le nom de tissu cytogène. Plus tard, His, appliquant sa méthode du pinceau à divers organes (thymus, amygdales, follicules du pharynx et de la base de la langue, follicules isolés ou agminés de l'intestin), y reconnut l'existence d'un tissu analogue, auquel il donna le nom de tissu adénoïde. Nous préférons à ce nom celui de tissu réticulé ou de tissu conjonctif réticulé, qui a été employé et vulgarisé par Frey. La description donnée dans le cours de ce chapitre doit suffire à légitimer notre préférence. — Pour les rapports de cette variété du tissu conjonctif avec les autres, voy. p. 336.

Si l'injection des vaisseaux sanguins a été faite avec une masse de gélatine colorée par le carmin, on pourra ensuite injecter le système lymphatique avec une masse de gélatine au bleu de Prusse en suivant les indications qui ont été données page 516. Avant de pratiquer la dissection, il faut laisser la gélatine se prendre par le refroidissement. En découvrant les ganglions, on reconnaît que leurs artères et leurs veines les pénètrent au niveau du hile. Pour aller plus loin et étudier la distribution de ces vaisseaux dans leur intérieur, ainsi que le siège et la forme des réseaux capillaires, il faut pratiquer des coupes de ces organes injectés après les avoir fait durcir dans l'alcool.

Les gros vaisseaux sanguins, artères et veines, situés à côté des vaisseaux lymphatiques efférents, se ramifient dans cette première portion de la substance médullaire qui ne contient pas encore de cordons folliculaires et qui est formée par un tissu conjonctif dense, mêlé parfois de cellules adipeuses. Chacune des branches de bifurcation, poursuivant son trajet, pénètre bientôt dans une des grosses travées de la charpente, se place à son centre et l'accompagne, en se divisant avec elle. Enfin, il s'en dégage des artérioles et des veinules qui traversent plus ou moins obliquement les conduits caverneux pour venir se jeter dans les cordons folliculaires ou dans les follicules, soit au niveau de leur col, soit sur leurs côtés.

La plupart des détails relatifs à cette disposition peuvent être reconnus à un faible grossissement dans des coupes passant par le hile et divisant le ganglion en deux parties égales.



Fig. 241. — Coupe à travers la substance médullaire d'un ganglion cervical du chien dont les vaisseaux sanguins ont été injectés. — *v*, vaisseaux sanguins contenus dans les grosses travées de la charpente; *r*, cordons folliculaires dans lesquels on distingue le réseau capillaire. — 55 diam.

Arrivées dans la substance folliculaire, les veinules et les artérioles continuent de se bifurquer et se jettent finalement dans un réseau de capillaires sanguins, répandu régulièrement dans toute l'étendue de cette substance Ce réseau, dont les mailles sont polygonales, est assez riche; il est limité à la substance folliculaire (cordons et follicules); il donne une image très caractéristique, surtout dans la portion médullaire du ganglion (fig. 241).

Les vaisseaux compris dans le réticulum folliculaire affectent avec ce dernier des rapports dont nous avons déjà parlé à propos des capillaires sanguins en général (voy. p. 450). Ces rapports ont été bien étudiés par His[1] et par

1. His, *loco citato*.

tous les auteurs qui depuis se sont occupés de la même question. Mais ce n'est pas dans les préparations faites après injection des vaisseaux sanguins qu'il convient de les suivre. Pour le faire, les meilleures préparations sont celles que l'on obtient après injection interstitielle d'acide osmique (fig. 240).

Un certain nombre des fibres du réticulum semblent venir s'attacher à la face externe du vaisseau, mais en réalité elles s'y infléchissent et s'y anastomosent pour former là, comme à la limite des follicules, une sorte de natte. De cette disposition il résulte qu'il y a lieu de considérer à ces vaisseaux deux tuniques : une tunique propre, semblable à celle des vaisseaux capillaires de tous les organes, et une tunique externe ou adventice, constituée par du tissu conjonctif réticulé.

Éléments lymphatiques. — Tous les ganglions lymphatiques donnent sur une surface de coupe un suc lactescent, que l'on obtient en quantité plus ou moins considérable en raclant cette surface avec un scalpel. Ce suc, examiné au microscope, paraît constitué par des cellules lymphatiques, pour la plupart petites, possédant dans leur intérieur un seul noyau qui en occupe presque toute la masse. Quelques-uns de ces éléments paraissent même avoir une constitution absolument nucléaire, en ce sens qu'il est impossible de distinguer en dehors du noyau rien qui ressemble à une couche protoplasmique. Mais, si, après avoir fait macérer les ganglions dans l'alcool au tiers pendant vingt-quatre heures, on en extrait le suc que l'on colore ensuite au moyen de la solution d'iode ioduré (voy. p. 94), les noyaux libres semblent y faire complètement défaut, et, même dans les éléments cellulaires les plus petits, on peut reconnaître autour du noyau une couche protoplasmique distribuée d'une manière irrégulière, de telle sorte que, presque invisible sur certains points, elle forme sur d'autres de petits amas granuleux.

Les cellules de formes variées qui se rencontrent dans le suc des ganglions lymphatiques peuvent être observées dans la lymphe en circulation et même dans le sang, mais les petites cellules à un seul noyau muni d'une quantité très faible de protoplasma, sont en proportion beaucoup plus considérable dans le suc ganglionnaire que dans la lymphe.

Examinées dans une chambre humide et à une température de 36 à 39 degrés, au moyen de la platine chauffante, les cellules du suc des ganglions lymphatiques du lapin paraissent animées de mouvements amiboïdes comme les autres éléments de la lymphe. Cependant toutes ne jouissent pas de la même activité, et à peu près la moitié d'entre elles sont immobiles ; parmi celles qui sont animées de mouvements, on en rencontre de toutes les dimensions et de toutes les espèces, et ce sont souvent les plus petites, celles qui possèdent la plus faible quantité de protoplasma autour de leur noyau, qui sont les plus actives.

Il y a lieu de se demander si, parmi ces cellules, celles qui restent immobiles ne sont pas celles des follicules et des cordons folliculaires, tandis que celles qui sont contenues dans le système caverneux seraient seules capables de mouvements amiboïdes. C'est là une question à laquelle il est impossible de répondre aujourd'hui, parce que le suc que l'on obtient par le raclage

provient aussi bien de la substance folliculaire que du système caverneux, et que dès lors on ne saurait distinguer l'origine des divers éléments qui s'y trouvent.

Dans la description des éléments contenus dans le suc des ganglions, nous avons négligé de parler des globules rouges du sang, des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et des voies lymphatiques, et de quelques débris du réticulum, parce que ce sont autant de parties accessoires. Il convient de signaler encore des granulations graisseuses qui se montrent, soit à l'état de liberté, soit dans l'intérieur des cellules lymphatiques des ganglions mésentériques, qui, comme on le sait, sont traversés par les chylifères, et les grains de pigment ou de charbon qui, chez les adultes, surtout chez ceux qui habitent les grandes villes, se trouvent toujours en notable quantité dans les ganglions bronchiques.

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES

Les éléments cellulaires de la lymphe jouent dans l'organisme un rôle considérable, dont on apprécie l'importance surtout depuis que l'on connaît deux phénomènes essentiels qui leur appartiennent : la migration et la diapédèse.

La migration des cellules lymphatiques à travers tout l'organisme, leur abondance dans les parties enflammées et partout où se produit un travail de réparation, conduisent à penser que ces éléments concourent à la restauration des tissus. Bien que cette opinion ne soit encore établie par aucun fait positif, elle s'appuie sur un si grand nombre d'observations indirectes, qu'elle s'accrédite chaque jour davantage et qu'elle est généralement admise aujourd'hui.

Si donc les cellules lymphatiques sont consommées par les différents tissus de l'organisme, il faut qu'il s'en produise constamment de nouvelles pour les remplacer et maintenir ainsi au même niveau la richesse cellulaire de la lymphe et du sang.

Or, les expériences sur les propriétés vitales de ces cellules (voy. p. 144) ont appris qu'elles ne présentent des mouvements amiboïdes et ne se multiplient que dans un milieu oxygéné. Elles ne peuvent donc pas se reproduire dans les vaisseaux lymphatiques, car on sait que, chez les animaux supérieurs, la lymphe ne contient pas d'oxygène ou n'en contient que de très petites quantités (voy. p. 145).

Dans les mailles du tissu conjonctif, leur prolifération ne peut être que très limitée, car elles y sont toujours peu nombreuses. Elles semblent même faire complètement défaut dans certaines variétés de ce tissu, les tendons et les aponévroses. Il y en a un nombre extrêmement restreint dans la cornée, et c'est seulement dans le tissu conjonctif diffus que l'on en rencontre d'une façon constante.

On est donc amené, par voie d'exclusion, à chercher dans les ganglions lymphatiques le lieu de production et de multiplication des éléments cellulaires de la lymphe.

Faisons remarquer d'abord que, si ces ganglions étaient, comme on l'a cru pendant longtemps, de simples lacis placés sur le trajet des vaisseaux lymphatiques entre leurs racines et leur terminaison dans le système veineux, les cellules lymphatiques ne pourraient pas s'y multiplier plus que dans les autres départements du système lymphatique, et dès lors leur signification physiologique elle-même nous échapperait complètement. Mais les recherches histologiques modernes nous ont appris que telle n'est pas leur structure. Les vaisseaux lymphatiques forment, il est vrai, en traversant les ganglions, un lacis cloisonné (sinus de la substance corticale et système caverneux de la substance médullaire), mais ce lacis est disposé autour de masses globuleuses ou cylindriques (follicules et cordons folliculaires) dont la fonction paraît précisément relative à l'élaboration des cellules lymphatiques.

C'est en effet dans les follicules et les cordons folliculaires seulement (voy. p. 529) qu'il existe un réseau capillaire sanguin, et la richesse de ce réseau ne le cède même à celle d'aucun autre organe.

Les follicules et les cordons folliculaires sont donc les seuls points de tout le système lymphatique où l'oxygène arrive d'une façon abondante; ce sont les seuls par conséquent où les éléments cellulaires puissent se multiplier.

Les cellules lymphatiques qui s'y trouvent emprisonnées en grande quantité sont, comme nous l'avons vu, petites et munies d'une faible quantité de protoplasma; ce sont des cellules nouvellement formées. Leur accumulation dans les follicules, jusqu'à les combler entièrement, parle aussi en faveur de leur néoformation active. Cette accumulation, d'une part, et, de l'autre, l'activité amiboïde qu'elles puisent dans leur contact avec un milieu oxygéné, sont vraisemblablement les conditions qui les déterminent à passer à travers le revêtement endothélial du follicule, pour entrer dans les voies efférentes de la lymphe.

Lorsqu'a paru la première édition de cet ouvrage, on ne connaissait pas encore les signes évidents de la multiplication cellulaire par division indirecte dans les ganglions lymphatiques. Mais après la lecture de la page précédente que j'ai reproduite sans aucun changement, tout portait à croire qu'il se faisait dans les follicules une multiplication active des cellules de la la lymphe, et ce fut ma conclusion. Depuis lors, Flemming[1] a trouvé dans les follicules lymphatiques, ceux des ganglions, ceux de l'intestin et ceux de la base de la langue, des cellules présentant tous les caractères de la multiplication par division indirecte, sur lesquels il est inutile de revenir ici, puisqu'ils ont déjà été exposés à propos des épithéliums (voy. p. 226).

Il y a lieu de se demander maintenant si toutes les cellules lymphatiques des follicules sont nées dans leur intérieur, ou si, au contraire, des cellules lymphatiques venues par les vaisseaux afférents y pénètrent pour s'y multiplier.

Bien qu'il ne soit pas possible de réaliser à ce sujet une observation directe,

1. *W. Flemming.* Die Zellvermehrung in den Lymphdrüsen (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. XXIV, 1885, p. 50).

il est cependant un fait qui conduit à adopter la seconde de ces deux opinions. Dans les ganglions mésentériques, au moment de la digestion, il y a des granulations graisseuses, non seulement dans les cellules qui circulent dans les voies lymphatiques, mais encore dans quelques-unes de celles qui sont emprisonnées dans les follicules. Ces cellules ont évidemment été amenées par les chylifères; elles ont donc pénétré du dehors dans l'intérieur des follicules. On comprendra aisément le mécanisme de cette pénétration si l'on se reporte à certaines expériences que nous avons faites sur les cellules lymphatiques enfermées dans une chambre humide (voy. p. 144). Ces expériences nous ont appris en effet que les cellules qui se trouvent dans un milieu pauvre en oxygène tendent à gagner les parties les plus oxygénées. Si donc des cellules lymphatiques, amenées par les vaisseaux afférents et circulant avec une extrême lenteur dans les sinus à cause des travées qui les cloisonnent, arrivent au contact des follicules, elles tendront à y pénétrer, parce qu'ils constituent un milieu relativement oxygéné.

De tout ce qui précède il résulte que le rôle physiologique le plus important des ganglions lymphatiques est de produire des éléments cellulaires qui, après être restés dans leur intérieur le temps nécessaire à leur élaboration, rentrent dans le courant lymphatique et contribuent finalement à augmenter la richesse des éléments cellulaires du sang.

CHAPITRE XVI

CŒURS LYMPHATIQUES[1]

Chez les batraciens, il existe à la racine de chaque membre un cœur lymphatique qui recueille la lymphe pour la lancer dans le système vasculaire sanguin.

Les deux cœurs lymphatiques postérieurs sont situés de chaque côté du coccyx; ils occupent un espace prismatique, limité par les muscles ilio-coccygien, coccy-fémoral et vaste externe. Cet espace est fermé en haut par une expansion de l'aponévrose ilio-coccygienne; en bas, il communique avec

1. Les cœurs lymphatiques des batraciens ont été découverts à peu près simultanément par J. Müller et Panizza.

En 1832, Jean Müller (*Annales de Poggendorf*) signala l'existence des cœurs lymphatiques postérieurs chez la grenouille. En 1833, Panizza, dans un grand ouvrage (*Sopra il sistema linfaticho dei Rettili*, Pavia, 1833), décrivit chez la couleuvre à collier, sur les parties latérales du corps, au-dessus du cloaque, deux vésicules contractiles, ayant pour fonction d'envoyer la lymphe dans le système vasculaire sanguin. Il étendit ses recherches à d'autres reptiles et aux batraciens, et chez ces derniers il découvrit, outre les cœurs postérieurs indiqués par J. Müller, les deux cœurs lymphatiques antérieurs.

La description que Panizza a donnée des cœurs lymphatiques des reptiles et des batraciens, en ce qui regarde leurs formes et leurs rapports anatomiques, est tellement exact qu'on n'y a rien ajouté depuis.

la cavité viscérale ; à ce niveau, il correspond aux vaisseaux iliaques et au nerf sciatique.

En haut, les cœurs lymphatiques postérieurs ne sont donc recouverts que par l'expansion de l'aponévrose ilio-coccygienne et par la peau ; dès lors, et surtout chez la grenouille rousse (*R. fusca*) et la rainette (*Hyla arborea*), dont la peau est très mince, on les voit très nettement battre dans la région indiquée sans avoir fait subir aucune mutilation à l'animal.

Les cœurs lymphatiques antérieurs sont situés au-dessous de l'omoplate ; ils sont entièrement recouverts par elle, et par suite on ne les voit pas battre à travers la peau. Pour les reconnaître et en observer les mouvements, il faut, après avoir dénudé l'omoplate, soulever son bord interne, en le saisissant avec une pince, et le dégager de ses insertions musculaires. On découvre alors le cœur lymphatique ; il est situé au-dessus de l'apophyse transverse de la troisième vertèbre et s'étend jusqu'au voisinage de l'apophyse transverse de la quatrième. Il est protégé en dehors par un arc cartilagineux qui termine l'apophyse transverse de la troisième vertèbre (fig. 242).

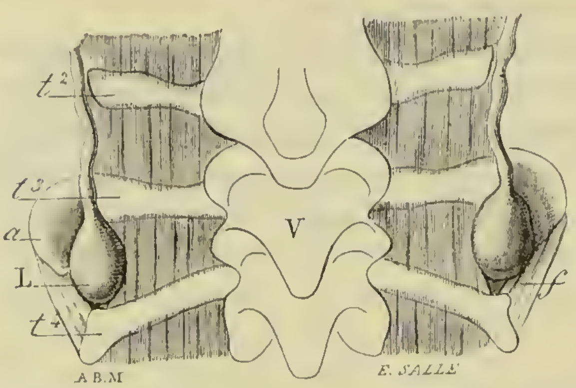


Fig. 242. — Rapports des cœurs lymphatiques antérieurs de la grenouille avec le squelette. — V, vertèbre ; L, cœur lymphatique ; t^2, t^3, t^4, apophyses transverses des seconde, troisième et quatrième vertèbres ; *a*, arc de la troisième vertèbre ; *f*, ligament intertransversaire. — 3 diam.

Chez les serpents, les cœurs lymphatiques, au nombre de deux, sont disposés, comme Panizza l'a reconnu, de chaque côté du corps, au-dessus du cloaque, dans une cage en partie osseuse (thorax lymphatique). Ce thorax est limité en dedans, en haut et en bas par des arcs osseux provenant de la bifurcation de la dernière côte et des quatre ou cinq apophyses costales qui lui font suite.

Pour apprécier le volume, la forme et la disposition intérieure des cœurs lymphatiques, il faut avoir recours à la méthode suivante : Une plaque de gélatine de Paris étant ramollie dans l'eau distillée est fondue au bain-marie ; on y ajoute le tiers de son volume d'une solution de nitrate d'argent à 1 pour 100. Une seringue hypodermique munie d'une canule en or est remplie de ce mélange, et, lorsqu'il est sur le point de se prendre par le refroidissement, on l'injecte dans le cœur lymphatique mis à découvert après que l'on y a fait pénétrer la pointe de la canule.

En général, la gélatine ne s'introduit pas dans les voies lymphatiques, mais elle s'engage dans une veine efférente dont il sera question ultérieurement, puis elle se répand plus ou moins loin dans le système veineux ; mais, comme bientôt elle se prend par le refroidissement, elle arrive à constituer une barrière, et la masse injectée, s'accumulant alors dans le cœur lymphatique, le distend et en accuse la forme. Après le refroidissement

de la gélatine, le cœur lymphatique est séparé au moyen de ciseaux fins des parties qui l'entourent et auxquelles il est uni par des tractus de tissu conjonctif nombreux et résistants. Lorsqu'il a été complètement isolé, ce qui s'obtient seulement à l'aide de beaucoup de patience et d'une certaine habitude de la dissection, on peut en apprécier d'une manière exacte les dimensions et la forme extérieure.

Chez les batraciens, le cœur lymphatique antérieur est régulièrement ovoïde ; en avant, il donne naissance à une branche veineuse d'un diamètre relativement considérable qui lui forme une sorte de col allongé (voy. L, fig. 242).

Les cœurs lymphatiques postérieurs sont irrégulièrement polyédriques : leur forme rappelle celle d'une fève. Ils sont aplatis latéralement, et leur grand diamètre est oblique de haut en bas et d'avant en arrière (en supposant la grenouille dans sa position naturelle). Leur veine efférente s'en dégage en bas et en avant.

Pour apprécier à l'œil nu ou à la loupe la disposition intérieure des cœurs lymphatiques, il suffit, après les avoir soumis à l'injection de gélatine additionnée de nitrate d'argent, de les exposer à la lumière jusqu'à ce qu'ils aient pris une teinte brunâtre, et de les porter ensuite dans de l'eau distillée élevée à la température de 35 à 38 degrés centigrades. La gélatine fond, s'échappe par les orifices vasculaires et surtout à travers l'ouverture faite par la canule, puis elle se dissout et diffuse dans le bain d'eau tiède. Pour hâter cette partie de l'opération, il convient de toucher à plusieurs reprises le cœur lymphatique avec un pinceau. Les parois de cet organe, qui ont été fixées par le nitrate d'argent, ont acquis une certaine rigidité ; lorsqu'elles ont été déprimées, elles reviennent à leur forme primitive. Quand toute la gélatine a été expulsée, il reste une vésicule que l'on peut diviser en deux parties, pour en étudier la disposition intérieure.

En général, la cavité des cœurs lymphatiques antérieurs est simple et régulière ; celle des postérieurs est partagée au contraire par des cloisons incomplètes plus ou moins nombreuses, plus ou moins saillantes, qui limitent des aréoles dont la forme et les dimensions sont variables. Ces différences dans la disposition intérieure des cœurs lymphatiques postérieurs sont frappantes, et il suffit, pour en apprécier l'étendue, de faire l'examen simultané des deux cœurs correspondants chez le même animal (fig. 243).



Fig. 243. — A et B, les deux cœurs lymphatiques postérieurs (le gauche et le droit) d'une grenouille verte, injectés de gélatine additionnée de nitrate d'argent, puis débarrassés de la gélatine et ouverts pour montrer leur disposition intérieure. — *c*, cloisons ; *p*, un des pores lymphatiques. — 8 diam.

Si maintenant, au moyen de ciseaux fins et bien tranchants, on enlève des lambeaux de la paroi des cœurs lymphatiques ainsi imprégnés par le nitrate d'argent, et qu'on les examine à un grossissement de 150 à 500 dia-

mètres, dans l'eau ou dans la glycérine, on reconnaîtra sur la face interne de ces cœurs l'existence d'un endothélium lymphatique caractéristique. Les cellules qui le constituent ont en effet des bords sinueux et largement engrenés les uns dans les autres. Au-dessous de l'endothélium, on aperçoit un réseau de fibres musculaires striées, dont les travées les plus épaisses limitent des aréoles peu profondes. En un certain nombre de points, il existe en outre des ouvertures, simples ou cloisonnées, sur le bord desquelles l'endothélium se replie pour se continuer dans des canaux qui, le plus souvent sont creusés obliquement dans la paroi du cœur lymphatique. Ce sont là autant d'ouvertures qui donnent passage à la lymphe et que nous désignerons sous le nom de *pores lymphatiques*.

L'ouverture veineuse est munie de deux valvules semi-lunaires orientées de telle façon qu'elles empêchent le retour de la lymphe et l'arrivée du sang dans la cavité des cœurs lymphatiques. Ces valvules, dont l'existence a été signalée d'abord par Weber chez le python, existent aussi chez la grenouille, et il est facile de les reconnaître à un grossissement de 50 à 100 diamètres dans les préparations d'ensemble obtenues au moyen d'injections de gélatine argentée.

Ces valvules sont suffisantes pour amener une occlusion complète de la veine efférente, au moment de la diastole du cœur lymphatique. On le reconnaît déjà, chez l'animal vivant, à l'absence du sang dans la cavité de ces cœurs, et l'on peut l'établir plus complètement au moyen d'injections pratiquées dans le système vasculaire sanguin.

En effet, si, après avoir complètement injecté les vaisseaux sanguins de la grenouille d'une masse de bleu de Prusse à la gélatine (voy. p. 107), soit par le bulbe aortique, soit par la veine abdominale antérieure, on dissèque soigneusement le système veineux de l'animal, on reconnaît facilement, surtout pour les cœurs lymphatiques antérieurs, que la veine efférente, absolument remplie, se termine au niveau du cœur lymphatique par deux renflements qui correspondent aux deux nids de pigeons des valvules semi-lunaires.

Si l'on se propose d'injecter la cavité des cœurs lymphatiques et en même temps leurs veines efférentes, il faut, ou bien faire pénétrer la masse directement dans le cœur lymphatique en procédant par piqûre, comme il a été dit plus haut à propos de la gélatine additionnée de nitrate d'argent, ou bien injecter tout le système lymphatique de l'animal.

Cette opération se fait de la manière suivante : la grenouille chez laquelle on se propose de pratiquer l'injection est plongée dans de l'eau maintenue à la température de 57 à 58° centigrades. Elle est bientôt complètement paralysée par asphyxie. On introduit alors sous la peau, par une petite incision pratiquée au niveau du tendon d'Achille, une canule munie à son extrémité d'un rebord pour empêcher le glissement du fil avec lequel on fera une ligature circulaire qui doit comprendre la patte de la grenouille et la canule elle-même.

La ligature étant appliquée, on injecte lentement et avec une pression très ménagée 40 à 50 centimètres cubes d'une masse de bleu de Prusse additionné

de gélatine, de manière à remplir tous les sacs lymphatiques de l'animal, et l'on s'arrête seulement lorsque le sac rétrolingual, complètement distendu, repousse la langue en dehors de la cavité buccale. Pendant cette opération, la grenouille doit être maintenue dans le bain d'eau tiède.

Lorsque la gélatine, complètement refroidie, est devenue solide, on procède à la dissection. Une incision longitudinale pratiquée sur le milieu du dos de l'animal et poursuivie de la tête au cloaque, met à nu la masse de gélatine contenue dans le sac dorsal, et, quand on a coupé avec des ciseaux les filaments vasculaires et nerveux qui, partis de la colonne vertébrale, se rendent obliquement à la peau, on peut extraire cette masse de gélatine en un seul bloc. On reconnaît alors que le sac dorsal est séparé des sacs latéraux par des cloisons qui, au niveau de la racine des membres, présentent des ouvertures simples ou réticulées. Des ouvertures analogues établissent des communications entre les différents sacs lymphatiques et permettent à la masse de les remplir tous en pénétrant des uns dans les autres.

En arrière (la grenouille étant considérée dans sa position naturelle), le sac dorsal se replie au-dessus des cœurs lymphatiques postérieurs et correspond aux sacs lymphatiques de la cuisse et aux sacs lymphatiques latéraux.

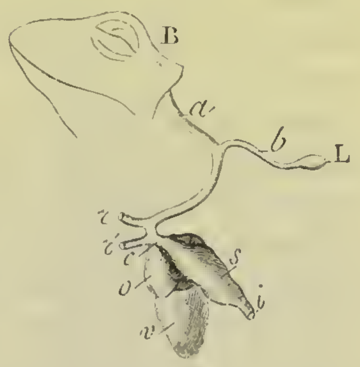


Fig. 244. — Rapports du cœur lymphatique antérieur de la grenouille avec le système sanguin. — Injection avec du bleu de Prusse additionné de gélatine faite par piqûre du cœur lymphatique, L. — *a*, veine jugulaire; *b*, veine provenant du cœur lymphatique antérieur; *s*, sinus veineux; *i*, veine cave inférieure; *c*, veine cave supérieure; *v*, ventricule; *o*, oreillette; *r* et *r'*, veines brachiales.

Lorsque l'on a ouvert tous ces sacs et que l'on a extrait la masse colorée, ils forment, au voisinage des cœurs lymphatiques, autant d'infundibulums qui se poursuivent jusqu'à la paroi même de ces cœurs. C'est au fond de ces entonnoirs membraneux que les cœurs lymphatiques présentent les ouvertures décrites plus haut (voy. p. 556) sous le nom de pores lymphatiques.

Les cœurs lymphatiques eux-mêmes contiennent de la masse à injection qui de là a pénétré dans leurs veines efférentes, les a distendues et s'est répandue ensuite dans tout l'appareil veineux. C'est ainsi que se sont injectées, par les cœurs lymphatiques antérieurs, les veines jugulaires et les veines caves supérieures; par les postérieurs, les veines crurales, les veines ischiatiques, les veines de Jacobson, la veine cave inférieure, le sinus veineux formé par l'abouchement de cette dernière avec les veines caves supérieures, l'oreillette droite, le ventricule, l'oreillette gauche, et une partie plus ou moins étendue de l'arbre artériel.

Il n'est pas d'expérience plus simple pour bien montrer la continuité du système lymphatique et du système sanguin et la libre communication les uns avec les autres des différents sacs lymphatiques qui, chez la grenouille, sont des équivalents du tissu conjonctif diffus de la plupart des autres vertébrés.

Du reste, chez la grenouille, le système lymphatique est presque entièrement représenté par les sacs et les cœurs lymphatiques, car il n'existe chez elle qu'un petit nombre de vaisseaux lymphatiques canaliculés : chez l'animal parfait, dans les membranes interdigitales et sous forme de gaines périvasculaire dans le mésentère, par exemple (voy. p. 494 et 495) ; chez les larves, dans l'expansion membraneuse de la queue, sous forme de vaisseaux absolument indépendants.

Les méthodes indiquées précédemment donnent des renseignements sur la situation, la forme et les rapports des cœurs lymphatiques. Celle de ces méthodes qui consiste à fixer les tissus de la paroi des cœurs lymphatiques au moyen de la gélatine mélangée au nitrate d'argent, seule nous a donné des indications sur l'endothélium qui en tapisse la paroi, et au-dessous duquel existent des fibres musculaires striées qui, en s'entre-croisant, peut-être en s'anastomosant les uns avec les autres, forment un réticulum comparable à celui du cœur sanguin. Mais, pour reconnaître la structure et même simplement la disposition générale des fibres striées qui entrent dans la constitution des cœurs lymphatiques, il faut avoir recours à d'autres méthodes.

Parmi ces méthodes, celle qui aujourd'hui vient naturellement à l'esprit consiste à injecter par piqûre la cavité du cœur lymphatique avec de la gélatine sur le point de se prendre, à détacher ensuite le cœur et à le plonger dans une solution d'acide osmique pour le fixer dans sa forme. Devenu rigide, il serait placé dans l'eau tiède pour faire fondre la gélatine, et l'on obtiendrait ainsi la paroi du cœur isolée et fixée dans sa disposition normale. Cette méthode ne conduit pas au résultat désiré, parce que, sous l'influence de l'acide osmique, la gélatine est devenue insoluble dans l'eau chaude. On peut même la soumettre alors pendant longtemps à l'action de l'eau bouillante sans réussir à la dissoudre.

Dès lors, il faut renoncer à distendre la paroi des cœurs lymphatiques par cette méthode, et en employer une autre qui donne de meilleurs résultats. Elle consiste à injecter par une piqûre, brusquement et avec force, un cœur lymphatique avec un mélange à parties égales d'acide osmique à 1 pour 100 et d'alcool à 36°. Par ce procédé, on obtient la fixation immédiate de la paroi du cœur au moment où elle est distendue. Détachée des parties environnantes, elle en est complètement dégagée par une dissection ultérieure pratiquée dans l'eau au moyen de la pince, des ciseaux et des aiguilles. Soumise à la coloration par le picrocarminate, elle sera dissociée ensuite dans l'eau ; la dissociation pourra être achevée sur la lame de verre. On obtiendra de la sorte des lambeaux de dimensions variables et même des fibres complètement isolées, qui seront montés en préparations persistantes dans de la glycérine additionnée d'acide formique.

Les préparations faites ainsi permettent de reconnaître que, chez la grenouille, il y a dans les cœurs lymphatiques un grand nombre de petits faisceaux musculaires striés qui ne présentent par de noyaux dans leur intérieur, mais qui possèdent à leur surface des amas de protoplasma sous

forme de monticules plus ou moins accusés, plus ou moins étendus et dans lesquels il existe des noyaux en nombre plus ou moins considérable (voy. fig. 245).

La striation de ces faisceaux ne diffère pas de celle que l'on observe dans les autres muscles striés : disques épais, espaces clairs, disques minces s'y succèdent dans leur ordre habituel.

A l'aide de la même méthode, on peut reconnaître encore que les faisceaux musculaires des cœurs lymphatiques de la grenouille sont de dimensions variables et qu'ils se divisent ou s'anastomosent à la manière des fibres du cœur sanguin. Mais elle ne permet pas, à cause des fibres de tissu conjonctif qui sont mêlées aux éléments musculaires, d'obtenir une séparation suffisante de ces derniers pour bien juger de leurs anastomoses.

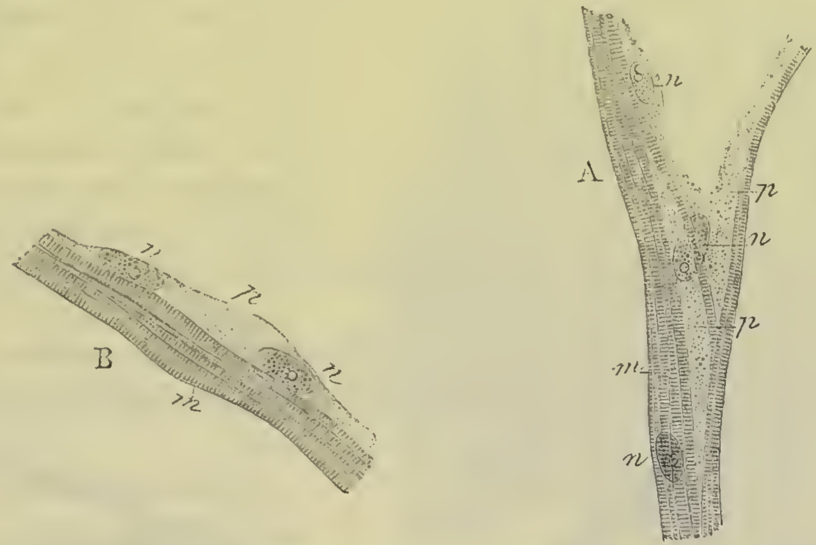


Fig. 245. — A et B, deux tronçons de fibres musculaires du cœur lymphatique postérieur de la grenouille verte, isolés après injection d'un mélange à parties égales d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et d'alcool à 36°. — *n*, noyaux : *p*, protoplasma : *m*, substance musculaire. — 500 diam.

Avant d'indiquer les méthodes au moyen desquelles on atteint facilement ce résultat, il convient de donner quelques renseignements sur les fibres musculaires des cœurs lymphatiques des reptiles.

Chez la couleuvre à collier, chez la couleuvre d'Esculape et en général chez tous les serpents, les fibres musculaires qui entrent dans la composition du cœur lymphatique sont plus volumineuses que chez la grenouille, et dans leur épaisseur on aperçoit des noyaux, comme dans les muscles volontaires. Mais il existe aussi à leur surface des amas protoplasmiques nettement dessinés, bien qu'ils ne soient pas aussi prononcés que chez la grenouille. On y observe également des divisions et des anastomoses. La striation des faisceaux est bien marquée ; elle y affecte sa disposition habituelle.

Chez les reptiles comme chez les batraciens, les fibres musculaires sont toujours accompagnées de faisceaux connectifs résistants qui, se dégageant des cœurs lymphatiques, vont s'attacher aux parties voisines ou les pénètrent. A ces faisceaux sont associées des cellules pigmentaires qui concourent à

donner aux organes dont nous nous occupons une teinte grisâtre, bien marquée surtout chez les reptiles.

On vient de voir que les faisceaux de tissu conjonctif rendent difficile la dissociation des fibres musculaires. Aussi cette dissociation est-elle facilitée par certaines réactions qui, tout en ramollissant le tissu connectif, conservent aux fibres musculaires leur consistance ou même la rendent un peu plus grande.

A propos du système musculaire, nous avons fait connaître une méthode à l'aide de laquelle, chez la grenouille, on atteint facilement ce résultat. Elle consiste à plonger un de ces animaux dans un bain d'eau élevé à la température de 55° et à l'y maintenir pendant 15 à 20 minutes. Après ce traitement, la séparation des muscles se fait avec la plus grande facilité, et, si l'on connaît bien d'avance la situation et les rapports des cœurs lymphatiques, on peut, en se servant de la pince et des aiguilles mousses, isoler complètement ces organes, les enlever et les dissocier sur une lame de verre dans une goutte d'eau. En colorant ensuite au moyen du picrocarminate d'ammoniaque, auquel on substitue ultérieurement la glycérine, on obtient des préparations où les divisions et les anastomoses des fibres musculaires des cœurs lymphatiques se présentent avec la plus grande netteté. On y reconnaît les monticules protoplasmiques et les noyaux marginaux des petits faisceaux musculaires.

Ces fibres convergent, se soudent les unes aux autres de manière à constituer en certains points les nœuds complexes d'un réticulum musculaire

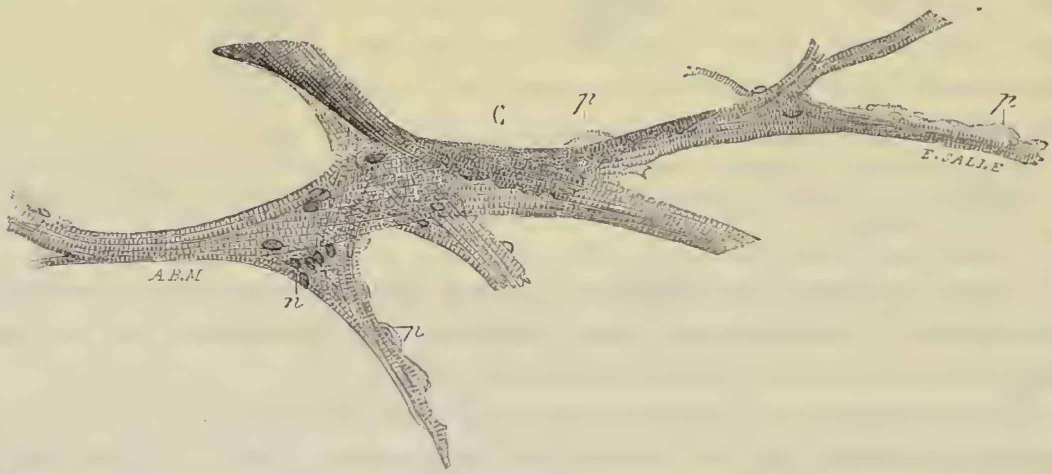


Fig. 246. — Une portion du réseau musculaire du cœur lymphatique postérieur de la grenouille verte, isolée après que l'animal a séjourné 15 minutes dans l'eau à 55°. Coloration avec le picrocarminate d'ammoniaque. Conservation dans la glycérine. — *p*, monticules protoplasmiques; *n*, noyaux. — 100 diam.

(fig. 246). Les fibres constitutives de ces nœuds y entrent avec leurs noyaux et leur protoplasma marginal, et celui-ci concourt à les unir.

Les anastomoses des fibres musculaires striées des cœurs lymphatiques pourraient suggérer l'hypothèse que ces fibres, comme celles du cœur sanguin, sont constituées par des cellules soudées bout à bout. Il n'en est pas ainsi ; pour s'en convaincre, il faut employer la méthode qui a conduit à la découverte de la véritable constitution du muscle cardiaque : la macération

de petits fragments du tissu dans une solution de potasse caustique à 40 pour 100. L'action de ce réactif, poursuivie pendant un quart d'heure ou vingt minutes, permet de séparer des cœurs lymphatiques qu'on y a plongés des faisceaux musculaires ramifiés et anastomosés, mais elle ne les divise nullement en une série de segments cellulaires analogues à ceux que l'application de la même méthode fournit pour le muscle cardiaque.

Tandis que, chez la grenouille, le cœur sanguin est dépourvu de vaisseaux nourriciers, les cœurs lymphatiques du même animal possèdent un réseau complet de capillaires sanguins. Pour observer ce réseau dans tous ses détails, il faut le remplir d'une masse au bleu de Prusse additionné de gélatine; ce que l'on obtient au moyen d'une injection générale du système vasculaire sanguin.

Lorsque la gélatine est prise par le refroidissement, la cavité viscérale de la grenouille est ouverte, la peau qui recouvre le dos est en partie réséquée, et l'animal est plongé pendant vingt-quatre heures dans le liquide de Müller. On procède alors à la dissection et à l'extirpation des cœurs lymphatiques; ensuite ils sont mis dans l'eau, divisés, convenablement étalés et montés en préparation dans la glycérine ou dans le baume du Canada, tels quels ou après coloration au moyen du carmin ou du picrocarminate.

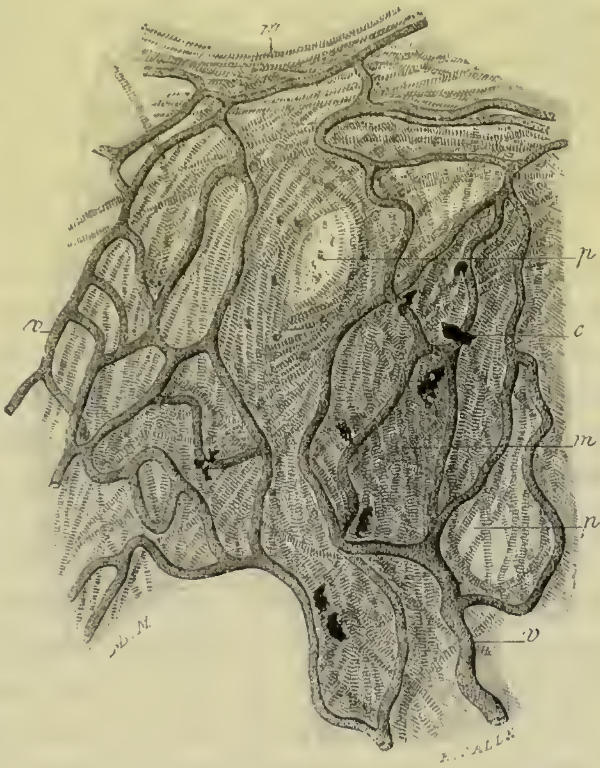


Fig. 247. — Paroi du cœur lymphatique antérieur de la grenouille verte, dont les vaisseaux sanguins ont été injectés. — *v*, vaisseaux sanguins; *m*, fibres musculaires; *p*, pores lymphatiques; *c*, cellules pigmentaires. — 60 diam.

Le réseau capillaire d'un cœur lymphatique, étant donnée seulement la forme qu'il affecte, ne saurait être reconnu comme un réseau musculaire. En effet, on a vu, à propos des muscles (voy. p. 598), que leurs vaisseaux nourriciers forment d'habitude des mailles quadrilatères allongées dans le sens des faisceaux primitifs et dont le petit diamètre correspond à peu près à l'épaisseur de ces faisceaux. Dans les cœurs lymphatiques, les mailles vasculaires ont des formes arrondies, sont de dimensions variables et n'affectent aucune disposition régulière. Les vaisseaux qui constituent le réseau sont situés souvent dans des plans différents et passent de l'un à l'autre en contournant des groupes plus ou moins grands de faisceaux musculaires.

Dans le chapitre de cet ouvrage qui sera consacré à l'étude de la terminai-

son de nerfs dans les muscles, on trouvera tous les détails relatifs aux modes de préparation des terminaisons nerveuses dans les muscles striés volontaires, dans le muscle cardiaque et dans les muscles striés involontaires, dont la musculature des cœurs lymphatiques fait partie. Mais nous devons dire par avance que chez les reptiles la terminaison des nerfs dans les cœurs lymphatiques se fait par des éminences et des arborisations terminales, comme dans les muscles volontaires, tandis que ces appareils terminaux n'existent pas dans le cœur sanguin[1].

A ces notions histologiques sur les cœurs lymphatiques, il convient d'ajouter quelques données relatives aux fonctions de ces organes.

Si l'on compare le système lymphatique chez les mammifères et chez les batraciens, on est frappé des différences qu'il présente dans les deux classes d'animaux. On a vu que, chez les mammifères, le système lymphatique prend son origine dans les cavités séreuses ou dans les mailles du tissu conjonctif, desquelles se dégagent des canaux caractérisés par la minceur de leurs parois, leurs valvules et leur endothélium spécial.

Les renflements supravalvulaires (voy. fig. 250, p. 495) qu'ils présentent, avec leurs cellules musculaires abondantes et entre-croisées à la manière du réticulum du myocarde, sont des analogues des cœurs lymphatiques des batraciens. Ces renflements jouent un rôle important dans la circulation de la lymphe. Leur contraction a pour premier effet l'occlusion des valvules au-dessus desquelles ils sont placés; puis elle produit un travail utile en chassant la lymphe dans des canaux de plus en plus larges, qui finalement la conduisent dans le système veineux.

Chez la grenouille, ainsi que nous l'avons déjà fait remarquer, si nous laissons de côté quelques gaines lymphatiques périvasculaires, quelques canaux d'origine dans la membrane interdigitale et dans la peau, il n'y a pas de lymphatiques proprement dits, et les vaisseaux lymphatiques des mammifères sont représentés par les sacs lymphatiques sous-cutanés, les espaces lymphatiques intermusculaires, la citerne rétro-péritonéale et la cavité péritonéale elle-même.

Les sacs lymphatiques, ainsi que les canaux rudimentaires dont il vient d'être question, sont dépourvus de valvules et de toute enveloppe musculaire. Si la lymphe y subit des déplacements sous l'influence des mouvements généraux de l'animal ou des contractions des masses musculaires voisines, ces mouvements ne sauraient guère y produire un écoulement dans un sens déterminé. Il importe cependant qu'elle soit conduite dans le système vasculaire sanguin pour que ses éléments puissent s'y régénérer ou y subir leur dernière évolution.

Ce sont les cœurs lymphatiques qui sont chargés de cette fonction spéciale de porter la lymphe dans le torrent circulatoire sanguin. Situés à la convergence d'un grand nombre de feuillets aponévrotiques qui les maintiennent et les tendent, les cœurs lymphatiques présentent une cavité béante, dès que

1. Voy. *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. II, p. 290 et suiv.

les fibres musculaires qui entrent dans la constitution de leur paroi ont cessé de se contracter pour produire leur systole.

Leur diastole est donc essentiellement passive, mais elle est rendue utile par l'extension et l'élasticité des filaments conjonctifs qui les relient aux parties voisines. Au moment où elle se produit, la lymphe pénètre dans la cavité des cœurs lymphatiques par un mécanisme analogue à celui qui fait pénétrer l'air dans un soufflet. Elle s'y introduit par les nombreuses ouvertures dont sa paroi est creusée et que nous avons décrites sous le nom de pores lymphatiques.

Au moment de la systole, les fibres musculaires qui forment la paroi du cœur lymphatique se contractent et diminuent la cavité de cet organe; elles rétrécissent ou ferment complètement la lumière des pores lymphatiques, les valvules semi-lunaires qui occupent l'orifice de la veine efférente s'ouvrent, et la lymphe est ainsi projetée dans le système veineux. En un mot, la lymphe entre dans les cœurs lymphatiques par aspiration, elle en est chassée par propulsion.

SYSTÈME NERVEUX.

Les organes qui appartiennent au système nerveux (encéphale, moelle épinière, ganglions périphériques, nerfs, terminaisons nerveuses) sont si différents les uns des autres qu'on ne les aurait pas compris jadis dans un même ensemble anatomique s'ils n'étaient pas reliés entre eux de façon à former un tout continu. Aujourd'hui, l'analyse histologique qui a été faite de ce système nous permet d'en ramener les différentes parties à un type parfaitement défini. Ce type, nous le trouvons dans la cellule nerveuse ou cellule ganglionnaire.

Les cellules nerveuses, bien que très variables dans leur forme et leur dimension, ont cependant un caractère commun : elles émettent toutes des prolongements qui deviennent des fibres nerveuses. Ces fibres, après un parcours plus ou moins compliqué dans les centres, s'associent pour former les nerfs périphériques et se continuent sans interruption jusqu'à leur terminaison dans les organes.

Il n'y a donc pas lieu de distinguer, en se plaçant il est vrai à un point de vue très général, les fibres nerveuses comme des éléments spéciaux, car elles sont des prolongements cellulaires extrêmement étendus et formés d'une substance semblable à celle des cellules dont elles émanent. C'est ainsi qu'une fibre nerveuse née de la moelle épinière, et qui, après avoir parcouru une certaine portion de la substance blanche de cet organe, s'engage dans une racine sacrée pour suivre le nerf sciatique et venir se terminer dans un des muscles du pied, doit être considérée, dans toutes les portions de ce long trajet, comme un prolongement cellulaire, et c'est, à proprement parler, la cellule nerveuse elle-même, étirée en un pédicule extrêmement allongé, qui vient impressionner la fibre musculaire à laquelle elle commande.

Que les cellules nerveuses soient stellaires comme dans les cornes anté-

rieures de la moelle épinière des mammifères, nettement bipolaires comme dans les ganglions spinaux des poissons, globuleuses unipolaires comme dans les ganglions spinaux des mammifères, elles présentent toutes la même structure essentielle. Cette structure a été déterminée par Remak[1] dans les cellules ganglionnaires de l'écrevisse. Considérons une cellule nerveuse unipolaire de l'un de ces animaux : nous la verrons formée à sa périphérie de fibrilles qui se poursuivent au niveau de son col et se réunissent pour former son prolongement.

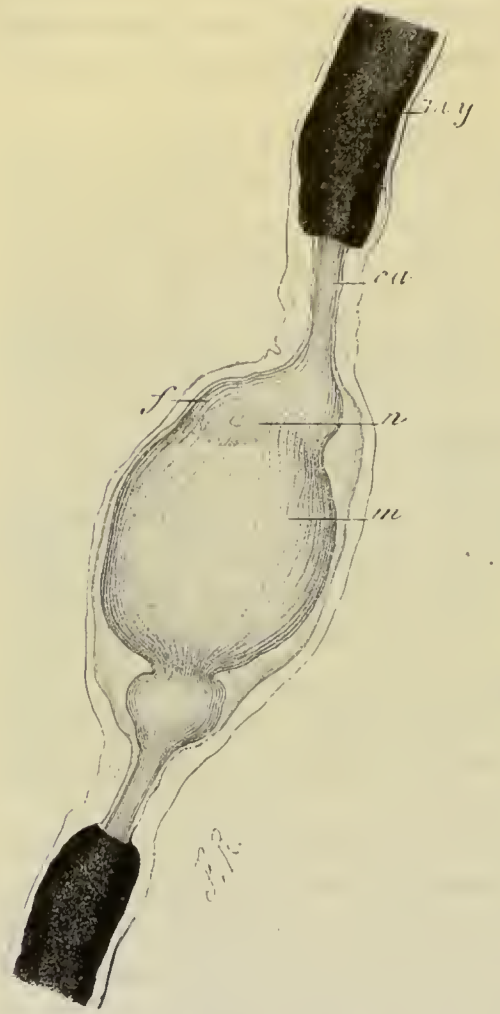


Fig. 248. — Une cellule nerveuse des ganglions spinaux de la raie. Injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100: dissociation dans le sérum iodé. — *my*, gaine médullaire; *ca*, cylindre-axe: *m*, globe ganglionnaire; *n*, noyau: *f*, fibrilles du cylindre-axe se séparant au point où elles atteignent le globe ganglionnaire. — 550 diam.

Cette disposition est également frappante dans les cellules ganglionnaires viscérales de l'escargot. Chez cet animal, on peut même constater dans quelques-unes des plus grosses cellules ganglionnaires une disposition intéressante qui montre combien est exacte la donnée ancienne de Remak. Au moment où elles s'engagent dans la fibre nerveuse qui naît de la cellule, les fibrilles s'entre-croisent pour former une sorte de chiasma.

Mais c'est surtout dans les cellules bipolaires des ganglions spinaux des plagiostomes qu'il est facile d'étudier les rapports des fibres nerveuses avec la substance des cellules ganglionnaires. Ces rapports ayant une grande importance au point de vue auquel nous nous sommes placé dans ces généralités, nous allons indiquer ici la méthode qu'il convient de suivre pour les observer.

Chez une raie vivante ou qui vient d'être sacrifiée, on dégage quelques ganglions spinaux, et l'on y fait une injection interstitielle d'acide osmique à 1 pour 100. Les ganglions ainsi injectés sont enlevés et placés dans du sérum iodé. C'est dans ce dernier réactif que l'on poursuit la dissociation au moyen des aiguilles et que l'examen doit être fait. On reconnaît alors dans la préparation des cellules bipolaires.

Dans la description que nous allons en faire, nous négligerons leurs enveloppes et d'autres détails de leur structure, sur lesquels nous reviendrons lorsque nous nous occuperons des ganglions spinaux en particulier. Chaque cellule (fig. 248) est placée sur le trajet d'une fibre nerveuse qui, au premier

1. *Remak*, Neurologische Erläuterungen (*Arch. de J. Müller*, 1844, p. 469).

abord, paraît simplement interrompue par la masse de la cellule ganglionnaire.

Mais cette interruption n'est qu'apparente. Grâce à la méthode qui a été employée ici, la fibre nerveuse se montre nettement constituée par des fibrilles placées les unes à côté des autres comme des javelots dans un faisceau. Lorsque cette fibre atteint la cellule, ses fibrilles constitutives se dissocient, continuent leur trajet à la périphérie du globe ganglionnaire et se réunissent au pôle opposé pour reconstituer une fibre nerveuse semblable à la première. Quant au globe ganglionnaire proprement dit, il semble formé d'une matière granuleuse, et il contient, non pas à son centre, mais au voisinage de sa surface, un gros noyau muni d'un nucléole.

Une couche corticale fibrillaire, un globe central granuleux, contenant près de sa surface un noyau dont le volume est relativement considérable et dans l'intérieur duquel il existe un et quelquefois deux gros nucléoles, ce sont là des faits qui, parfaitement nets dans les cellules bipolaires des ganglions spinaux de la raie, peuvent être observés dans la plupart des cellules nerveuses, en se plaçant dans certaines conditions que nous dérminerons dans la suite.

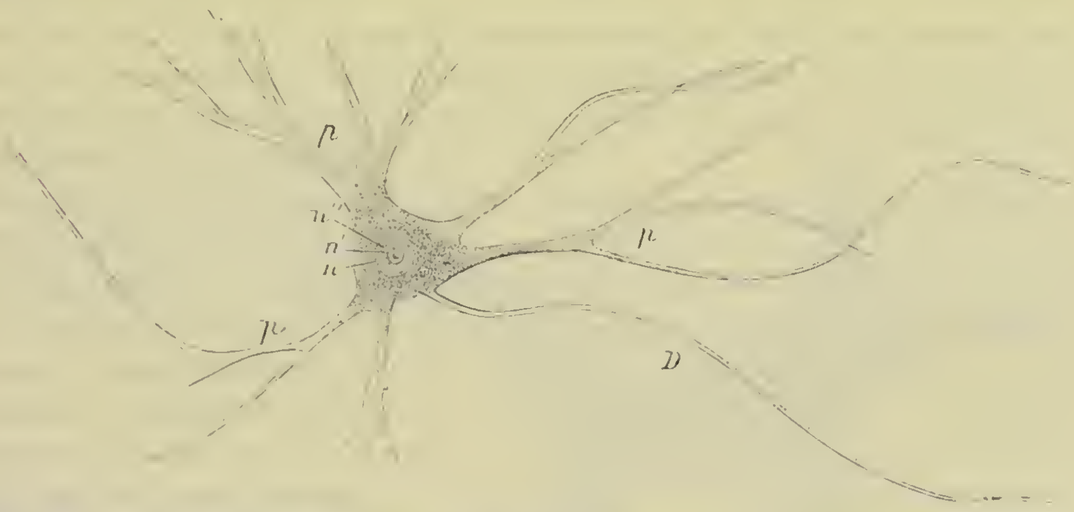


Fig. 249. — Une cellule des cornes antérieures de la moelle du veau. — *n*, noyau; *n'*, nucléole; *n''*, nucléolule; *p*, prolongements protoplasmiques; *d*, prolongement de Deiters. — 170 diam.

La méthode qui vient de nous faire connaître ces faits intéressants sur la structure de la cellule nerveuse des plagiostomes peut être également employée avec avantage pour l'étude des cellules nerveuses des cornes antérieures de la moelle épinière de l'homme, du bœuf, du chien et des autres mammifères. Ces cellules sont munies de nombreux prolongements; tous sont ramifiés, à l'exception d'un seul, qui a été découvert par Deiters.

Les prolongements ramifiés sont nettement fibrillaires comme les fibres nerveuses qui traversent les ganglions spinaux de la raie. Le prolongement de Deiters paraît homogène; on doit supposer cependant qu'il est également formé de fibrilles. En effet, le prolongement de Deiters des cellules antérieures de la moelle étant une fibre motrice, et les fibres de cette espèce étant destinées, comme nous l'indiquerons plus tard, à se diviser et à se sub-

diviser quand elles auront pénétré dans les muscles auxquels elles se distribuent, ce prolongement correspond évidemment à plusieurs fibrilles terminales. On est conduit dès lors à lui supposer une constitution fibrillaire. Si jusqu'à présent on n'a pu lui reconnaître cette constitution par une observation directe, c'est que les fibrilles y sont exactement appliquées les unes sur les autres, ou bien qu'il existe entre elles une substance unissante dont la réfringence est égale à la leur.

Le cylindre-axe d'une fibre nerveuse étant formé par un faisceau de fibrilles, il ne doit pas être envisagé comme une individualité élémentaire. D'autres faits histologiques, relatifs aux plexus nerveux, viennent encore confirmer cette manière de voir. C'est dans la cornée qu'il est le plus facile d'observer ces plexus et d'en suivre la merveilleuse intrication.

La cornée du lapin convient spécialement pour ces recherches; elle doit être traitée par le chlorure d'or, qui, dans certaines conditions, jouit de la remarquable propriété de se réduire dans les fibrilles nerveuses et de les dessiner nettement. Les préparations seront faites à l'aide d'un procédé sur lequel nous aurons souvent à revenir dans l'étude pratique du système nerveux. La cornée enlevée à un animal que l'on vient de sacrifier, est plongée pendant cinq minutes dans du jus de citron fraîchement exprimé et filtré; puis elle est portée dans quelques centimètres cubes d'une solution de chlorure d'or à 1 pour 100, où elle reste quinze minutes environ; enfin elle est lavée dans l'eau distillée et mise dans un flacon contenant 25 à 50 centimètres cubes d'eau distillée à laquelle on ajoute une ou deux gouttes d'acide acétique. Vingt-quatre ou quarante-huit heures après, la réduction de l'or étant opérée sous l'influence de la lumière du jour, la cornée est devenue violette. On y fait alors des coupes parallèles à sa surface. Dans celles de ces coupes qui contiennent des portions de la membrane placées immédiatement au-dessous de l'épithélium antérieur, on reconnaît, à un grossissement de 150 à 400 diamètres, que les fibres nerveuses qui s'y distribuent s'anastomosent les unes avec les autres, en formant un plexus dont les mailles ont des dimensions variables et dont les points nodaux élargis laissent voir des fibrilles nerveusse entre-croisées dans toutes les directions. L'intrication de ces fibrilles est tellement complexe et tellement variée, qu'elle défie toute description.

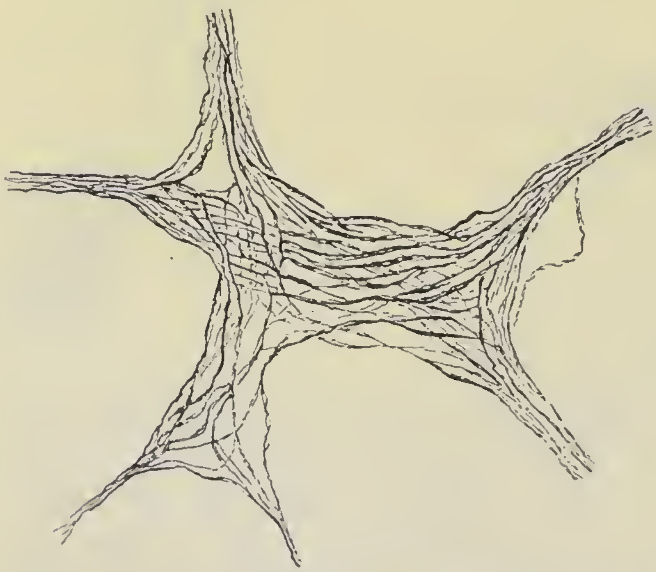


Fig. 250. — Un nœud du *plexus fondamental* de la cornée du lapin, dont les fibrilles constitutives sont mises en évidence par le chlorure d'or.

Cependant, si nous suivons une fibrille nerveuse à partir du point où, se dégageant d'un petit tronc nerveux, elle entre dans le plexus de la cornée, nous la voyons s'engager successivement dans plusieurs des branches de ce plexus en s'associant à des fibrilles qui proviennent d'un autre nerf. Or, chaque branche du plexus nerveux de la cornée pouvant être regardée comme une fibre nerveuse distincte, et les fibrilles qui entrent dans sa constitution ayant des origines bien différentes, il en résulte nécessairement que cette fibre ne doit pas être considérée comme une individualité histologique.

La fibre nerveuse ne constitue pas non plus une individualité physiologique. C'est un organe complexe, dont l'origine peut bien être dans une seule cellule nerveuse, ainsi que cela existe certainement dans l'appareil électrique des poissons, mais qui peut aussi dépendre de plusieurs cellules nerveuses, ainsi que cela ressort d'une manière tout à fait évidente de l'observation des tubes nerveux en T des ganglions spinaux chez les mammifères et chez les batraciens[1].

Nous sommes amené maintenant à envisager les fibrilles nerveuses dans leurs terminaisons.

La physiologie conduit à penser qu'une fibrille nerveuse est un fil conducteur destiné à transmettre à un centre des impressions sensitives ou à transporter à la périphérie une incitation motrice. Que l'on considère la fibrille sensitive ou la fibrille motrice, on a dès lors une tendance à lui reconnaître deux terminaisons, l'une dans les centres d'incitation ou de perception, l'autre à la périphérie.

Ce que nous avons dit des cellules nerveuses, de leur constitution fibrillaire, de la façon dont les fibrilles qui entrent dans leur composition s'engagent dans les fibres nerveuses, conduirait à penser que ces fibrilles n'ont pas de terminaison centrale. Cependant les fibrilles que l'on observe dans la couche superficielle des cellules nerveuses sont si peu nettes, elles sont tellement intriquées les unes avec les autres, et leur rapport avec le globe ganglionnaire est si peu déterminé encore aujourd'hui, que l'on a le droit de supposer, et cette hypothèse est loin d'être invraisemblable, qu'un certain nombre de ces fibrilles prennent réellement naissance dans le globe ganglionnaire et s'infléchissent à sa surface pour venir se confondre avec le lacis fibrillaire superficiel de la cellule[2].

Les terminaisons périphériques des fibrilles nerveuses sensitives ou motrices sont connues seulement dans quelques organes, et encore les notions que nous avons à leur sujet ne sont-elles pas complètement établies. En effet, si, dans les muscles striés et dans les lames électriques de la torpille, on a pu observer des terminaisons nerveuses libres, il ne suit pas de là que les bourgeons terminaux qui caractérisent ces terminaisons soient

1. Des tubes nerveux en T et de leurs relations avec les cellules ganglionnaires (*Comptes rendus*, 1875).

2. Lorsque nous nous occuperons spécialement des cellules nerveuses, nous indiquerons encore certaines hypothèses qui ont cours dans la science. Mais comme ces hypothèses, bien qu'elles soient exposées dans presque tous les traités classiques, ne sont pas en rapport avec des faits positifs, nous les passons sous silence.

formés par une simple fibrille élémentaire. Il se pourrait, en effet, qu'ils fussent constitués par une ou plusieurs fibrilles repliées à leur niveau de manière à figurer une anse. Il s'agit d'objets si délicats, les moyens que nous avons pour les étudier sont si insuffisants, qu'il me paraît complètement impossible de trancher la question, et l'on peut discuter aujourd'hui encore pour savoir si les fibrilles nerveuses se terminent par des extrémités libres ou par des anses terminales.

A ces deux théories, qui depuis bien des années partagent les histologistes, il convient d'en ajouter une troisième qui a été formulée dans sa généralité par Hensen[1]. Voici en quoi elle consiste : On savait que la terminaison des nerfs se fait dans quelques appareils sensoriaux par des cellules spéciales. D'autre part, on savait que, dans un processus de division cellulaire assez fréquent, une cellule dans laquelle se sont formés deux noyaux s'étrangle et prend la forme dite en bissac. On conçoit que la division commencée puisse s'arrêter à cette phase et que le pont qui réunit les deux portions de la cellule en voie de division puisse atteindre sans se rompre une longueur notable.

Si donc, pendant le développement embryonnaire du système nerveux, une cellule appartenant à ce système subit une division incomplète, une des portions pourra demeurer dans les centres, tandis que l'autre restera liée à la périphérie. Entre ces deux portions munies chacune d'un noyau, il subsistera un filament de substance cellulaire pour former la fibre nerveuse.

L'auteur de cette théorie s'appuie encore pour l'édifier sur une observation négative, à savoir, qu'aucun histologiste n'a jamais pu observer que les nerfs croissent du centre à la périphérie.

Nous ne discuterons pas maintenant la conception de Hensen ; nous l'avons donnée simplement pour compléter l'énumération des théories que l'on a formulées et que l'on peut encore formuler aujourd'hui relativement à la terminaison des nerfs.

Pour achever cette esquisse de la structure du système nerveux considéré dans ce qu'il a d'essentiel, nous devons ajouter que des éléments empruntés au système conjonctif ou au système épithélial viennent se mélanger aux éléments nerveux proprement dits pour constituer des organes distincts. Dans les nerfs et dans les masses ganglionnaires de la périphérie, ces éléments ont des caractères parfaitement tranchés, et leur étude, comme on en jugera par la suite, peut être faite d'une manière complète. Il n'en est pas ainsi pour l'encéphale, la moelle épinière, la rétine, etc., car, parmi les cellules que contiennent ces organes, il en est dont la signification histologique et physiologique est encore obscure et dont on ne peut pas dire si elles sont de nature nerveuse ou de nature connective. C'est là une discussion dont la place est naturellement indiquée dans le chapitre qui sera consacré aux centres nerveux.

Dans l'étude que nous allons faire maintenant des différents organes qui

[1]. *Hensen*, Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung, etc., in *Zeitschrift für Anat. und Entwick.*, 1876, p. 372.

composent le système nerveux, nous nous occuperons successivement des nerfs, des terminaisons nerveuses et des organes nerveux centraux.

CHAPITRE XVII

NERFS

Parmi les nerfs que l'on peut reconnaître à l'œil nu, il en est qui sont blancs et ont un aspect moiré caractéristique : ce sont ceux dans lesquels il existe des fibres à myéline en forte proportion. D'autres, qui sont entièrement constitués par des fibres nerveuses sans myéline ou dans lesquels les fibres médullaires sont en petit nombre, sont grisâtres et légèrement translucides.

Les tubes nerveux à myéline existent seulement chez les vertébrés. Chez les invertébrés, les nerfs sont entièrement constitués par des fibres nerveuses sans moelle.

Les fibres nerveuses contenues dans les nerfs, qu'elles soient de l'une ou de l'autre espèce, ne sont pas formées uniquement de fibrilles nerveuses ; il entre dans leur composition des éléments du système conjonctif, et autour d'elles sont répandus des éléments du même système. De plus, les nerfs étant habituellement formés d'un certain nombre de faisceaux de différents diamètres, chacun de ces faisceaux est entouré d'une gaine connective spéciale, gaine lamelleuse. Il est des nerfs qui sont constitués par un seul faisceau nerveux et qui possèdent dès lors une seule gaine lamelleuse. Ils sont enveloppés d'une atmosphère connective. Lorsque plusieurs faisceaux concourent à la formation d'un nerf, cette atmosphère connective, disposée entre eux pour les séparer et les unir, se continue à la surface du nerf entier et établit ses relations avec les parties voisines.

Les vaisseaux sanguins parcourent l'atmosphère connective des nerfs, s'y ramifient, pénètrent dans les faisceaux nerveux d'un diamètre notable et se distribuent dans leur intérieur.

Nous aurons donc à étudier successivement dans ce chapitre les fibres à myéline, les fibres sans myéline ou de Remak, le tissu conjonctif des nerfs, les vaisseaux sanguins des troncs nerveux, et enfin les rapports du tissu connectif des nerfs avec les lymphatiques.

TUBES NERVEUX A MYÉLINE

Tous les nerfs qui présentent l'aspect moiré caractéristique peuvent être utilisés pour l'étude des tubes nerveux à myéline ; mais cependant il convient de commencer les recherches relatives à ces éléments sur des nerfs qui possèdent de gros faisceaux.

Le sciatique de la grenouille, le sciatique du lapin et du chien, dans leur partie supérieure, doivent être choisis de préférence à tous les autres, et même c'est par le sciatique de la grenouille qu'il faut commencer. Ce nerf est formé d'un seul faisceau nerveux à la partie supérieure de la cuisse, mais à sa partie inférieure il se divise en deux faisceaux nerveux qui s'écartent l'un de l'autre.

Chez une grenouille que l'on vient de sacrifier, le sciatique est dénudé, puis il est enlevé et placé sur une lame de verre avec quelques gouttes d'eau. Saisissant alors au moyen de deux pinces les deux branches nerveuses qui résultent de la division du tronc principal, on les écarte l'une de l'autre, et au moyen d'une traction modérée on fend le nerf dans toute sa longueur. Un certain nombre des tubes nerveux qu'il contient sont ainsi mis en liberté et flottent dans le liquide additionnel. Quelques-uns ont été déchirés et montrent une extrémité libre, ce que l'on reconnaît en examinant la préparation à un faible grossissement.

Si l'on recouvre d'une lamelle et si l'on fait immédiatement l'examen à un grossissement suffisant, les tubes nerveux à myéline isolés apparaissent sous la forme de cylindres réguliers dans lesquels on distingue une partie centrale, qui devient légèrement obscure quand on éloigne l'objectif, et de chaque côté une bordure qui paraît brillante dans les mêmes conditions[1].

Peu à peu, sous l'influence du liquide additionnel, on voit survenir une altération de la fibre que l'on a sous les yeux. La bordure perd de sa netteté, la ligne qui la limite en dedans devient sinueuse, la substance qui la forme n'est plus homogène; il y apparaît des plis, des stries, des filaments, des granulations, dont le nombre et l'étendue augmentent progressivement jusqu'à effacer le double contour et à donner à toute la fibre un aspect granuleux.

Les phénomènes qui se produisent sous l'influence de l'eau dans les fibres nerveuses dont nous nous occupons en ce moment ont été attribués par Henle à la coagulation de la myéline, coagulation qui, se faisant d'abord à la périphérie, déterminerait l'apparition de la bordure réfringente ou du double contour et l'effacerait ensuite en se poursuivant successivement jusqu'au centre de la fibre.

Le double contour du tube nerveux avait été interprété d'une tout autre façon par Remak[2]. Cet auteur considéra la partie centrale la moins réfringente de la fibre comme un cylindre bien différent de la myéline, et il la désigna sous le nom de *ruban primitif*. Le ruban primitif de Remak fut ensuite étudié et décrit par Purkinje[3] sous le nom de *cylinder-axis*, cylindre-axe, qui lui a été conservé.

1. C'est sans doute une observation de ce genre qui avait conduit Leeuwenhoeck à admettre que les fibres dont nous nous occupons ont une constitution tubulaire, le double contour représentant la paroi du tube, et la partie obscure du milieu de la fibre correspondant à une lumière centrale.

Cette constitution tubulaire admise par Leeuwenhoeck a fait donner à ces fibres le nom de tubes nerveux, sous lequel nous les désignons encore aujourd'hui.

2. *Remak*, Froriep's neue Notizen, 1837, n° 47.

3. Voy. *Henle*, Encyclopédie anatomique. Traduct. française, t. VII, p. 348.

On peut déjà constater l'existence réelle du cylindre-axe sans autre mode de préparation que celui qui a été indiqué. En effet, dans les fibres nerveuses qui ont été déchirées, la rupture du cylindre-axe et celle du reste de la fibre ne se produisent pas toujours au même niveau, et souvent de la surface de section on voit s'échapper un filament pâle, vitreux, dont on distingue le contour et la limite en ombrant le champ du microscope et en disposant convenablement l'éclairage.

Sous l'influence de l'eau, le cylindre-axe mis à nu se gonfle, tandis que, à côté ou autour de lui, la myéline s'échappe sous la forme de bourgeons filamenteux. On dirait des fils transparents enroulés sur eux-mêmes. Ces fils se gonflent peu à peu, leurs contours deviennent moins nets, ils semblent se fondre les uns dans les autres, et au bout d'une demi-heure à une heure les bourgeons filamenteux sont devenus des boules de dimensions variables avec un bord très réfringent et des stries concentriques rappelant incomplètement les fils qui les composaient. Ces masses de myéline ont les formes les plus diverses, depuis la cylindrique jusqu'à la sphérique ; les détails bizarres qu'elles présentent défient toute description. Finalement la myéline mise en liberté est transformée tout entière en sphères ou en boyaux plus ou moins allongés, limités par un double contour formant une bordure réfringente plus ou moins épaisse.

Dans cette transformation successive de la myéline, rien ne ressemble à une coagulation. Au contraire, toutes ces fibres transparentes qui ont apparu au début du processus semblent se gonfler en absorbant de l'eau et se fondre les unes avec les autres jusqu'à produire les boules à double contour caractéristique.

C'est seulement au niveau des extrémités des fibres nerveuses divisées par section ou par déchirure que la myéline s'échappe dans le liquide additionnel, en prenant les formes variées que nous venons de décrire. Tout le contour naturel de la fibre reste régulier, à moins que, sous l'influence des manœuvres de la préparation, il ne se soit fait en un point une petite déchirure; il s'en échappe alors des filaments de myéline semblables à ceux qui se dégagent de l'extrémité sectionnée.

Cette observation suffirait à faire admettre autour de la fibre nerveuse une gaine qui empêche la myéline de s'échapper au dehors. Cette gaine existe : elle a été découverte par Schwann et signalée dans ses mémorables recherches microscopiques (1839); depuis cette époque elle est connue sous le nom de *membrane de Schwann*.

L'existence de cette membrane permet de considérer les fibres à myéline comme des tubes et de leur conserver le nom de tubes nerveux. Dans l'intérieur de ces tubes se trouve compris, outre la couche de myéline, le cylindre-axe, qui à lui seul constitue la fibre nerveuse proprement dite.

Dans les tubes nerveux isolés par dissociation et examinés dans l'eau, on peut encore apercevoir des noyaux. Ils sont placés au-dessous de la membrane de Schwann, dans une masse de matière granuleuse qui les fixe à cette membrane. On peut constater aussi que ces tubes ne sont pas des cylindres

réguliers; ils présentent en certains points des étranglements annulaires. De plus, tout à fait au début de l'action de l'eau, on observe sur le bord des tubes nerveux des incisures obliques sur lesquelles Schmidt[1] d'abord et ensuite Lanterman[2] ont attiré l'attention[3]. Mais ce sont là des dispositions difficiles à apprécier au moyen de cette méthode, et il convient de les étudier à l'aide d'autres procédés pour en reconnaître la constance et en déterminer la signification.

Lorsque, en pratiquant la dissociation du nerf, au lieu d'employer l'eau comme liquide additionnel, on fait usage du sérum faiblement iodé, les tubes nervaux isolés se présentent d'abord avec des formes très pures. Au bout d'un temps plus ou moins long, ils montrent des altérations semblables à celles que l'eau y détermine; mais comme ces altérations se produisent beaucoup plus lentement, le sérum iodé convient pour en suivre les progrès.

L'alcool au tiers (voy. p. 68) est également un bon liquide additionnel pour l'étude des tubes nerveux isolés. Les détails de ces tubes et surtout leurs cylindres-axes s'y voient nettement, et sous ce rapport l'alcool à ce degré de dilution est supérieur au chloroforme (Waldeyer) et au collodion (Pflüger).

Parmi les matières colorantes que l'on peut appliquer à l'étude des tubes nerveux à myéline dissociés à l'état frais, le picrocarminate d'ammoniaque est celle que l'on doit préférer. Pour en obtenir de bons résultats, il importe qu'il soit de bonne qualité, c'est-à-dire qu'il soit entièrement soluble dans l'eau (voy. p. 87). On en fera une solution au centième.

Si l'on dissocie un segment du nerf sciatique du chien, du lapin ou de la grenouille, sur une lame de verre, dans une goutte de ce réactif, en suivant les indications qui ont été données pages 64 et 65, on trouvera toujours dans la préparation quelques tubes convenablement isolés. Ils laissent échapper leur myéline, qui subit, mais beaucoup plus lentement, les transformations variées qu'elle présente dans l'eau.

1. *Schmidt*, On the construction of the dark or double-bordered nerve-fibre (*Monthly microscopical Journal*, p. 200. 1er mai 1874).

2. *Lanterman*, Ueber den feineren Bau der markhaltigen Nervenfaser (*Arch. f. micr. Anat.*, 1876, t. XIII, p. 1).

3. F. Boll (*Studi sulle imagini microscopiche della fibra nervosa midollare*, in R. Acad. dei Lincei, Roma, 1877) a fait sur les incisures de la gaine médullaire un bon travail, le meilleur qui ait paru sur cette intéressante question. Il établit d'abord qu'avant Schmidt, W. Zawerthal (*Contribuzione allo studio anatomico della fibra nervosa*, in Rendiconti della R. Accademia delle scienze fisiche e matematiche di Napoli, marzo 1874), avait reconnu l'existence des incisures. Il étudie les modifications de la gaine médullaire des tubes nerveux sous l'influence d'une solution de sel marin à 0,75 pour 100, de l'eau distillée, du picrocarminate, d'une solution de sel marin à 10 pour 100, et d'une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. Ces différentes modifications sont reproduites dans une série de dessins annexés à son mémoire. Il démontre qu'entre deux étranglements annulaires les incisures divisent la gaine médullaire en un nombre plus ou moins considérable de segments distincts. Il en décrit bien les formes et les dispositions diverses que nous avions indiquées de notre côté (*Leçons sur l'histologie du syst. nerveux*, t. I, p. 71). Il signale même un mode d'emboîtement que nous n'avions pas observé. Cet emboîtement consiste en ce qu'un segment cylindroconique s'engage dans une rainure du segment voisin comme un verre de montre dans sa sertissure.

Bientôt, les tubes nerveux, lorsqu'ils sont complètement dégagés, éprouvent des modifications qui s'étendent peu à peu et d'une manière semblable au-dessous et au-dessus de chacun de leurs étranglements annulaires. La myéline perd de sa réfringence et devient légèrement grenue, tandis que le cylindre-axe apparaît d'une manière nette. Il est limité par un double contour : le contour externe est rectiligne, tandis que le contour interne, moins accusé, est sinueux (fig. 251).

Lorsqu'une portion du cylindre-axe s'échappe d'un tube nerveux divisé, elle se colore rapidement en rouge, tandis que la portion du même cylindre-axe qui est encore comprise dans le tube nerveux est incolore. Peu à peu cependant, la coloration se poursuit, et au bout d'une demi-heure à une heure un segment plus ou moins long du cylindre-axe compris dans le tube nerveux s'est coloré.

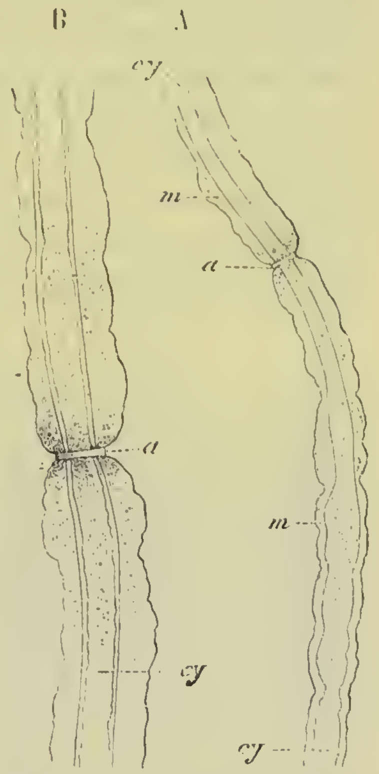


Fig. 251. — Tube nerveux à myéline du nerf sciatique du lapin adulte, dissocié dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100. Le dessin a été fait une heure après le début de l'action du réactif : A, à un grossissement de 300 diamètres ; B, à 600 diamètres. — *a*, étranglement annulaire ; *m*, gaine de myéline ; *cy*, cylindre-axe.

Lorsque la préparation a séjourné vingt-quatre heures dans une chambre humide, afin d'éviter l'évaporation, les tubes nerveux présentent des cylindres-axes colorés en rouge dans une longueur notable à partir des extrémités sectionnées. La myéline qui s'est échappée des tubes a subi des transformations importantes. Souvent elle a donné naissance à de grands boyaux qui s'avancent en divers sens, s'incurvent, se rejoignent et s'enchevêtrent d'une manière variée. Lorsque les tubes nerveux sont complètement isolés, le picrocarminate a pénétré dans leur intérieur au niveau de chacun de leurs étranglements annulaires et en a coloré les cylindres-axes. Si, sous l'influence de la dissociation, un tube nerveux a été replié en anse, le cylindre-axe qu'il contient, tendu sur la concavité de l'anse, touche directement en un point la gaine de Schwann, la myéline étant à ce niveau refoulée de l'autre côté. En ce point, le cylindre-axe s'est coloré aussi bien que vers les extrémités sectionnées et qu'au niveau des étranglements annulaires, tandis que, dans le reste de sa longueur, il est demeuré incolore.

De ce fait, il résulte que la myéline ne se laisse pas traverser par le picrocarminate d'ammoniaque. Si donc il se produit dans les tubes nerveux qui sont plongés dans ce réactif une coloration du cylindre-axe au niveau des étranglements annulaires, c'est que la myéline manque en ces points, ainsi qu'on peut du reste l'établir de la manière la plus complète à l'aide d'autres méthodes qui seront exposées plus loin.

L'emploi du nitrate d'argent dans l'étude des tubes nerveux à myéline révèle plusieurs détails importants de leur structure.

Deux procédés peuvent être mis en usage : ou bien un nerf grêle est plongé tout entier dans la solution de nitrate d'argent, ou bien on dissocie directement dans cette solution un nerf plus volumineux.

Les nerfs thoraciques du lapin, du rat et de la souris conviennent spécialement pour appliquer le premier de ces procédés. Chez un de ces animaux que l'on vient de sacrifier et qui est attaché convenablement sur une planchette, on pratique sur le thorax et sur l'abdomen une incision médiane et longitudinale; puis, saisissant avec les doigts ou avec une pince l'une des lèvres de l'incision, on écarte la peau et, se servant du manche du scalpel, on la détache de manière à mettre à découvert les nerfs thoraciques. Ces nerfs, se dégageant des espaces intercostaux pour se rendre aux téguments, apparaissent comme autant de petits cordons blancs, très fins et très souples, que l'on maintient facilement en extension en tendant légèrement la peau.

Après s'être assuré qu'ils sont bien isolés en passant au-dessous d'eux un

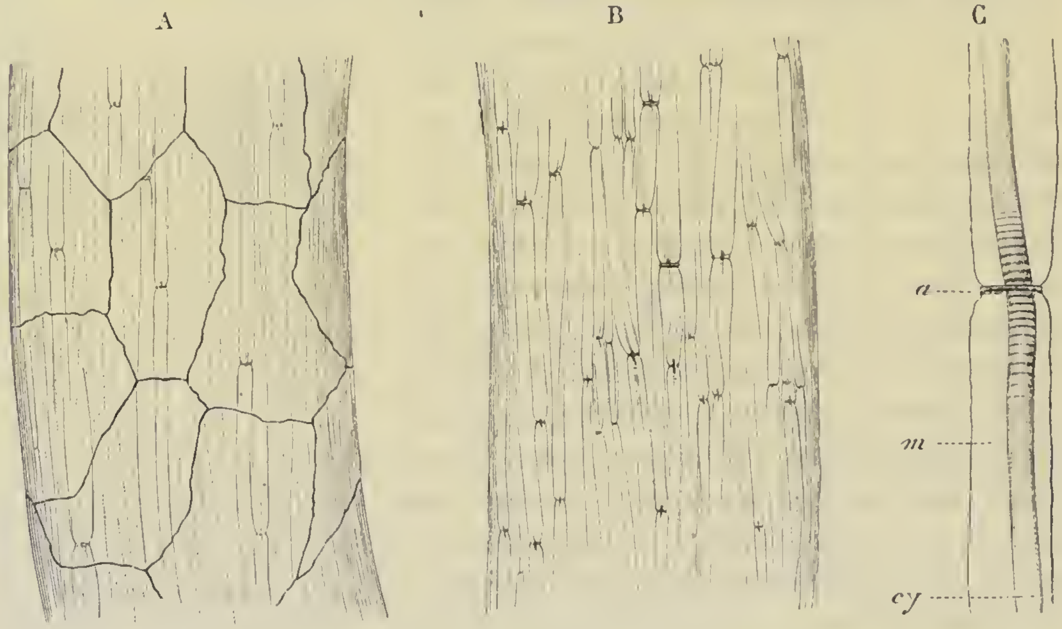


Fig. 252. — A. Nerf thoracique de la souris, formé par un seul faisceau nerveux, imprégné par le nitrate d'argent. On y observe l'endothélium de la gaine de Henle et au-dessous quelques étranglements annulaires dessinés par l'argent. — 200 diam.

B. Nerf préparé comme celui qui est figuré en A. La gaine a été enlevée et l'imprégnation d'argent des étranglements annulaires y est plus complète. — 200 diam.

C. Un tube nerveux du nerf sciatique du lapin adulte, isolé après imprégnation d'argent *a*, étranglement annulaire; *m*, gaine médullaire; *cy*, cylindre-axe. — 600 diam.

petit crochet mousse, on les arrose au moyen d'une pipette, d'abord avec de l'eau distillée et, immédiatement après, avec une solution de nitrate d'argent à 3 pour 1000. Sous l'influence du nitrate d'argent, les filets nerveux deviennent bientôt rigides. Ils sont alors coupés à leurs deux extrémités et portés dans la solution de nitrate d'argent, où on les laissera exposés à la lumière du jour 5, 10, 15 ou 20 minutes, suivant que l'on se proposera d'atteindre plus ou moins profondément les parties sur lesquelles le nitrate d'argent viendra se fixer et se réduire. Enfin, les nerfs seront lavés dans l'eau distillée, et, après

y avoir séjourné quelques minutes, ils seront disposés sur une lame de verre et recouverts d'une lamelle.

En les examinant à un grossissement de 150 à 500 diamètres, on reconnaît d'abord à leur surface l'existence d'un revêtement endothélial sur lequel nous reviendrons bientôt, puis une série de petites croix latines, dont les branches longitudinales sont parallèles à l'axe du nerf (voy. fig. 252). Au moment où la préparation vient d'être faite, ces petites croix ne sont pas fortement colorées en noir; mais, si l'on expose les nerfs à la lumière solaire, elles deviennent parfaitement nettes.

On peut s'assurer par un examen attentif et avec un objectif suffisant que la barre transversale de la croix correspond à un étranglement annulaire, tandis que la barre longitudinale appartient au cylindre-axe.

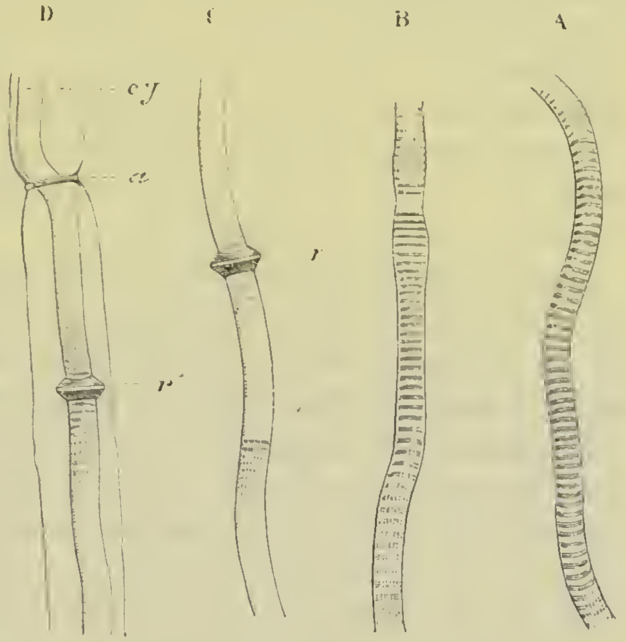


Fig. 255. — Tubes nerveux et cylindres-axes du nerf sciatique du lapin adulte, dissociés dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500.

A et B, deux cylindres-axes isolés qui montrent les stries de Frommann.

C, cylindre-axe qui montre en *r* un renflement biconique.

D, tube nerveux dont le cylindre-axe et l'anneau *a* sont imprégnés d'argent ; *cy*, cylindre-axe qui, au niveau de l'étranglement annulaire *a*, a subi une déviation sous l'influence de la dissociation; *r'*, renflement biconique. — 600 diam.

La formation des petites croix sous l'influence du nitrate d'argent démontre que la solution de ce sel, qui, pendant la durée de l'immersion, a été en contact avec la surface des tubes nerveux, a pénétré dans leur intérieur au niveau des étranglements annulaires seulement; elle a atteint les cylindres-axes, qui en ces points ne sont pas protégés par la myéline, et de là elle a diffusé dans leur intérieur d'une manière symétrique au-dessus et au-dessous des étranglements. Aussi la longueur de la branche longitudinale de la croix dépend-elle, dans une certaine mesure, de la durée de l'immersion. Si elle a été courte, il peut même se faire que la barre transversale de la croix, celle qui correspond à l'étranglement annulaire, soit seule dessinée.

Lorsque les cylindres-axes sont imprégnés, comme ils sont d'abord atteints au niveau des étranglements, celles de leurs parties qui les avoisinent ont naturellement fixé une plus grande quantité du sel métallique et présentent, dès lors, une teinte foncée. Au delà et en deçà, cette teinte diminue d'une manière progressive et dessine une série de bandes transversales (voy. fig. 255). La striation transversale des cylindres-axes sous l'influence du sel d'argent a été signalée il y a déjà longtemps par Frommann[1].

1. *Frommann*. Zur Silberfærbung der Axencylinder (*Virch. Arch.* 1864, t. XXXI, p. 151).

Les nerfs imprégnés par le nitrate d'argent donnent des images très nettes, surtout quand on les examine dans l'eau. Pour les conserver, il faut remplacer ce liquide par la glycérine. Seulement, comme ce dernier réactif, lorsqu'il est ajouté brusquement, détermine un retrait des tubes nerveux, il convient de le faire arriver très lentement, ce que l'on obtient, par exemple, en mettant une goutte de glycérine sur un des bords de la lamelle qui recouvre la préparation, et en maintenant ensuite cette dernière pendant vingt-quatre heures dans une chambre humide.

Lorsque l'on conserve pendant longtemps des nerfs imprégnés d'argent à l'abri de la lumière, les croix deviennent pâles, et pour les retrouver un fort grossissement est nécessaire. Mais il suffit d'exposer la préparation au soleil pour lui rendre sa netteté primitive.

Le second des procédés que l'on peut employer pour faire agir le nitrate d'argent sur les tubes nerveux à myéline, celui qui consiste à dissocier les nerfs directement dans la solution du sel d'argent, fournit des préparations très instructives, bien que, au moment où le réactif les pénètre, la plupart des tubes nerveux soient déjà plus ou moins modifiés dans leur forme, sous l'influence de la dissociation.

Les nerfs que l'on soumet à ce mode de préparation doivent contenir des faisceaux volumineux (nerf sciatique du chien, du lapin, du cochon d'Inde, du rat, etc.), de telle sorte qu'il soit possible d'en déchirer la gaine pour mettre les tubes en liberté. On les laissera séjourner quelques minutes dans la solution du sel d'argent ; ils seront ensuite lavés à plusieurs reprises dans l'eau distillée, et ils seront examinés dans ce dernier liquide ou dans la glycérine, qu'on lui aura substituée lentement.

Dans ces préparations, quelques-uns des tubes nerveux qui ont échappé d'une manière complète au traumatisme donnent des figures de croix régulières; mais, dans la plupart d'entre eux, ces figures sont modifiées. Parmi ces modifications, il en est une qui doit être d'abord signalée, parce qu'elle donne des renseignements précieux sur les différentes parties qui entrent dans la composition des tubes nerveux au niveau des étranglements annulaires (*a*, fig. 255, D.) : le cylindre-axe a été déplacé suivant la longueur du tube nerveux; l'étranglement est encore marqué par une dépression de la membrane de Schwann, au fond de laquelle il existe un anneau coloré en noir *a*. A une petite distance de celui-ci, le cylindre-axe présente un renflement *r* et *r'*.

Ce renflement (renflement biconique), d'une forme presque géométrique, paraît constitué par deux cônes réunis par leur base et dans l'axe desquels passerait le cylindre-axe. Leur surface de jonction, au lieu de présenter à son pourtour un angle dièdre aigu, correspond à un méplat analogue à la troncature d'un cristal. Sous l'influence du nitrate d'argent, le renflement biconique s'est coloré en noir; il est limité des deux côtés par une ligne plus claire, au delà de laquelle se montrent les stries de Frommann.

Il y a donc à considérer, au niveau des étranglements annulaires, le cylindre-axe, le renflement biconique et l'anneau de l'étranglement qui

appartient à la membrane de Schwann. Cet anneau, sur les vues de profil, apparaît comme un simple trait, mais souvent sur les tubes nerveux dissociés il se montre plus ou moins de trois quarts et affecte alors une forme annulaire. J'ai cru longtemps que l'anneau des étranglements, que le nitrate d'argent dessine en noir, correspondait à un ciment analogue à celui qui soude les cellules endothéliales et les segments du myocarde; mais, tout récemment, ayant repris l'étude de la question, je suis arrivé à douter de l'existence de ce ciment. J'ai cherché d'abord à disjoindre la membrane de Schwann au niveau des étranglements, en employant les dissociateurs chimiques les plus puissants, la potasse à 40 pour 100 et l'acide azotique à 20 pour 100. Je n'y ai pas réussi. Alors, j'ai sectionné le sciatique d'un lapin, et, quatre jours après, l'animal étant sacrifié, j'ai traité par le nitrate d'argent le segment périphérique du nerf. Il ne s'est plus produit d'anneaux d'imprégnation au niveau des étranglements. Que s'est-il formé dans le nerf à la suite de la section qui puisse entraver l'action du nitrate d'argent? Le cylindre-axe a disparu de chaque côté des étranglements; quant à la membrane de Schwann, elle n'est nullement disjointe à ce niveau.

L'acide osmique est employé aujourd'hui par tous les histologiques dans l'étude des tubes nerveux ; il donne des préparations belles et très démonstratives, mais seulement à la condition d'en faire un usage bien réglé.

Il ne faut pas perdre de vue que les tubes nerveux à myéline sont des éléments très délicats, et qu'il est nécessaire de prendre les plus grandes précautions pour ne pas les altérer dans le nerf que l'on se propose de soumettre à l'action de l'acide osmique ; autrement, on s'expose à commettre des erreurs considérables.

Si l'on opère sur le nerf sciatique de la grenouille, par exemple, après l'avoir découvert en se servant du bistouri et de la pince, et en évitant de le toucher avec ces instruments, on le coupera à son extrémité supérieure, et on le saisira à cette extrémité seulement pour le détacher dans toute sa longueur, l'enlever et le porter immédiatement dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100.

Il n'est pas indifférent que le nerf y séjourne à l'état d'extension ou de complet relâchement. Suivant qu'il sera dans l'un ou l'autre de ces états, il donnera des préparations notablement différentes. Ces préparations seront bien plus nettes si le nerf est maintenu à son degré d'extension physiologique au moment où il est atteint et fixé par le réactif.

Pour cela on prend une petite tige de bois dans laquelle on pratique un évidement; au niveau de celui-ci on dispose le nerf enlevé avec les précautions qui ont été indiquées, et on le fixe au degré d'extension convenable au moyen de ligatures placées à ses deux extrémités.

Une méthode plus simple encore consiste à glisser sous le nerf découvert, mais laissé en place, la petite tige de bois évidée sur laquelle on le fixe au moyen de deux ligatures, il est nécessairement maintenu par elles en extension physiologique.

Ainsi tendu sans être comprimé, grâce à l'évidement de son support, le segment nerveux est placé avec ce dernier dans un flacon ou un tube rempli de la solution d'acide osmique et convenablement bouché ; il n'a de la sorte subi aucune altération mécanique, sinon au niveau des ligatures.

Ce procédé peut être appliqué à n'importe quel nerf facilement maniable ; et, pourvu que celui-ci soit absolument frais, enlevé à l'animal vivant ou immédiatement après sa mort, on obtiendra de bons résultats.

Les nerfs doivent être maintenus dans la solution d'acide osmique d'autant plus longtemps qu'ils sont plus volumineux. Il suffit que le nerf sciatique de la grenouille y ait séjourné quelques heures pour qu'il soit imprégné et fixé dans toutes ses parties. Pour le sciatique du lapin, le même résultat n'est atteint qu'au bout de quinze à vingt heures, et il faut plus longtemps encore pour le sciatique du chien. Il est également nécessaire que la quantité de la solution soit en rapport avec le volume et la longueur du nerf.

Lorsqu'il est atteint dans toutes ses parties, ce dont on juge en constatant que, sur une coupe transversale pratiquée avec le rasoir, il est noirci jusqu'à son centre, le nerf est mis dans une soucoupe de porcelaine remplie d'eau distillée, et l'on procède à la dissociation.

Les aiguilles que l'on emploie pour la faire doivent être bien polies, afin d'éviter qu'elles n'adhèrent aux filaments et aux tubes nerveux au fur et à mesure qu'ils sont dégagés.

Des pinces fines, telles qu'on les emploie d'habitude pour les préparations histologiques, sont également utiles pour pratiquer cette dissociation.

Supposons d'abord que nous ayons affaire au sciatique de la grenouille enlevé avec ses deux branches de bifurcation inférieures. Au moyen de deux pinces, on saisit ces deux branches ; en les écartant dans l'eau, on déchire ainsi la gaine du nerf et on met à nu un certain nombre des tubes nerveux qui sont compris dans sa partie supérieure.

Dans cette opération, il arrive le plus souvent que quelques tubes nerveux se dégagent des autres sans avoir été touchés par les instruments. Ce sont les meilleurs pour l'observation. En continuant ensuite la dissociation au moyen des aiguilles, on obtient encore, en prenant les précautions indiquées page 552, quelques tubes isolés ou en petits groupes qui donneront également de bonnes préparations.

Ils seront conduits au moyen des aiguilles sur une lame de verre plongée obliquement dans l'eau. Celle-ci est alors retirée du liquide avec les éléments nerveux que l'on maintient à sa surface. Pour ajouter une lamelle et terminer la préparation, il faut avoir recours au tour de main de la demi-dessiccation (voy. p. 65).

La lamelle à recouvrir doit être soutenue au moyen de cales formées de papier mince, ou de lames de moelle de sureau.

La dissociation des nerfs des mammifères, après que ces nerfs ont été soumis à l'action de l'acide osmique, s'effectue sans difficulté lorsque la gaine lamelleuse d'un de leurs gros faisceaux nerveux a été fendue dans toute sa longueur. Cette opération peut être faite avec des ciseaux fins, mais

il vaut encore mieux l'exécuter avec un scalpel bien tranchant, manœuvré comme pour faire une incision superficielle.

Lorsque la gaine est ouverte, on en dégage les tubes nerveux avec la plus grande facilité en les saisissant avec la pince à l'extrémité du faisceau nerveux, tandis qu'on retient le reste avec une aiguille. En poursuivant la dissociation, on devra avoir bien présent à l'esprit que toutes les parties des tubes nerveux touchées par les instruments sont notablement altérées.



Fig. 254. — Nerf sciatique du lapin, en extension physiologique, fixé au moyen de l'acide osmique, puis dissocié dans l'eau. — *e*, étranglements annulaires; *n*, noyaux des segments interannulaires. — 50 diam.

Les tubes nerveux isolés par dissociation après macération convenable dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et examinés dans l'eau, sont parfaitement nets, et, de toutes les méthodes qu'on peut employer pour la préparation de ces éléments, c'est celle qui montre le mieux certains détails de leur structure. Si l'on désire conserver les préparations, il faut remplacer l'eau par la glycérine[1], en faisant pénétrer ce dernier réactif aussi lentement que possible, et pour cela on suivra les procédés qui ont été indiqués un peu plus haut (p. 556).

Lorsque, avant d'être immergé dans la solution d'acide osmique, un nerf n'a pas été tendu, et qu'on en pratique ensuite la dissociation en suivant exactement les procédés que

1. Pour conserver les tissus qui ont été soumis à l'action de l'acide osmique, Max Schultze a recommandé comme liquide additionnel une solution d'acétate de potasse, qui partage avec la glycérine la propriété de ne pas se dessécher. Mais ce réactif n'a pas les

nous venons d'indiquer on constate que les tubes nerveux, isolés ou en petits groupes, sont repliés en zigzag[1]. Les étranglements annulaires s'y reconnaissent, mais ils paraissent serrés.

Pour bien voir ces étranglements et les étudier dans leurs différentes parties, il faut les prendre dans des nerfs fixés à l'état d'extension par l'acide osmique. Les étranglements annulaires sont alors nettement marqués par des barres transversales claires qui divisent chaque tube nerveux en segments d'égale longueur.

Ces segments, *segments interannulaires*, sont d'autant plus courts, toutes choses égales d'ailleurs, que le diamètre des tubes nerveux est plus petit. Il y a quelques exceptions à cette règle; elles seront signalées à propos des nerfs où elles se présentent.

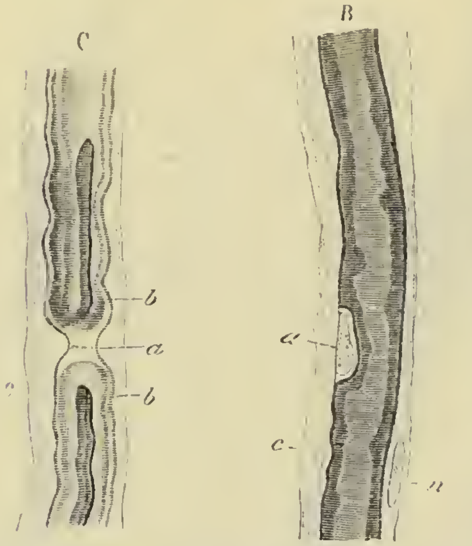


Fig. 255. — Tubes nerveux du sciatique du chien adulte, dissociés après un séjour de 24 heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100.

B. *a*, noyau du segment interannulaire; *n*, noyau d'une cellule connective; *c*, tissu conjonctif intrafasciculaire.

C. *a*, étranglement annulaire; *b*, *b*. renflements terminaux de deux segments voisins; *c*. tissu conjonctif intrafasciculaire. — 400 diam.

Les segments interannulaires ne sont pas colorés en noir uniforme par l'acide osmique; ils présentent, suivant leur axe, une portion centrale dont la teinte est toujours moins foncée que celle de leurs bords. Cela tient à la présence du cylindre-axe. La coloration noire des tubes nerveux est due, en effet, à ce que la myéline réduit l'acide osmique, tandis que les cylindres-axes ne sont pas colorés ou le sont à peine par ce réactif. C'est là une notion qu'il faut avoir pour comprendre pourquoi, dans les tubes nerveux traités par l'acide osmique, les étranglements sont indiqués par une barre transversale claire. A leur niveau, la gaine médullaire est interrompue, et il existe seulement le cylindre-axe, son renflement biconique et la membrane de Schwann.

Chez la plupart des vertébrés, les tubes nerveux présentent de chaque côté de leurs étranglements annulaires une légère dilatation, ce qui leur donne en ces points une forme élégante.

Dans la région dilatée, qui forme comme une ampoule, il y a des crêtes longitudinales bien marquées surtout chez la grenouille (voy. fig. 258). Les deux ampoules qui se font face de chaque côté de l'étranglement limitent un ménisque biconcave qui paraît homogène au premier abord. Mais, en l'examinant attentivement et avec un objectif fort et à grand angle d'ouverture, on

qualités que Schultze lui a attribuées, et les préparations de tubes nerveux s'y conservent beaucoup moins bien que dans la glycérine : il doit donc être laissé de côté.

1. Cette disposition des tubes nerveux dans l'intérieur de la gaine lamelleuse se produit à l'état physiologique; c'est à elle qu'il faut attribuer l'apparence moirée spéciale que présentent les nerfs revenus sur eux-mêmes, et qui disparaît quand ils sont en extension.

peut y reconnaître le cylindre-axe qui est traversé perpendiculairement, au milieu du ménisque, par une strie. Cette strie, qui paraît brillante quand on éloigne l'objectif, obscure quand on le rapproche, correspond au renflement biconique, corps réfringent et convexe (voy. p. 556)[1].

Le renflement biconique et ses rapports avec le cylindre-axe peuvent être mieux observés dans les tubes nerveux où la myéline a été refoulée de chaque côté de l'étranglement par suite de la diffusion de la solution d'acide osmique (*a*, *b*, fig. 256).

Chaque segment interannulaire possède un noyau situé à peu près à égale distance des deux étranglements annulaires qui le limitent. Ce noyau peut toujours être reconnu dans les tubes nerveux d'un petit diamètre; mais, lorsque ces tubes sont larges, il faut qu'il se présente sur leur profil pour qu'on le voie nettement. Il est légèrement aplati, possède un nucléole et se trouve logé dans une échancrure de la gaine médullaire qu'il ne remplit pas complètement. Entre lui et la myéline il existe un amas de protoplasma qui s'étend au-dessous de la membrane de Schwann et le fixe à cette membrane, fait que l'on peut déjà constater par le simple examen du tube nerveux dans l'eau (voy. p. 551).



Fig. 256. — Tube nerveux du sciatique du lapin, traité par l'acide osmique à 1 pour 100. — Les deux renflements de myéline sont écartés, et les détails de l'étranglement sont mis en évidence. — *ca*, cylindre-axe; *my*, gaine de myéline; *a*, étranglement annulaire; *b*, renflement biconique. — 550 diam.

Chez les jeunes sujets, la masse de protoplasma qui entoure le noyau du segment interannulaire est plus considérable. On peut la suivre à une grande distance sous la membrane de Schwann en dehors des limites du noyau; elle semble même la doubler dans toute son étendue (voy. fig. 257). Enfin, il se montre parfois dans cette masse protoplasmique des gouttelettes de myéline qui se colorent par l'osmium, ainsi que Axel Key et Retzius l'ont observé[2].

La dissociation directe des nerfs dans la solution d'acide osmique fournit des préparations fort instructives, mais elle a l'inconvénient d'exposer l'opérateur à l'action irritante des vapeurs de ce réactif sur la conjonctive et la muqueuse respiratoire. On peut se mettre à l'abri de ces accidents à l'aide de quelques précautions.

Le nerf, enlevé avec tous les ménagements précédemment indiqués, est placé sur le fond blanc d'une soucoupe contenant 1 centimètre cube environ d'une

1. Quelques auteurs (Axel Key et Retzius, Rouget, etc.) ont décrit et figuré des étranglements annulaires au niveau desquels la gaine médullaire ne serait pas interrompue. Ces sortes d'étranglements n'existent pas à l'état physiologique; il s'agit là simplement d'une altération, ainsi que je l'ai établi en déterminant les conditions dans lesquelles on peut la reproduire (*Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. I, p. 60).

Lorsque les nerfs soumis à l'action de l'acide osmique sont dissociés sans ménagements, on observe encore en des points plus ou moins nombreux des fractures de la myéline au niveau desquelles on aperçoit le cylindre-axe complètement dénudé; il ne faut pas les confondre avec les étranglements annulaires.

2. *Axel Key* et *Retzius*. Studien in der Anatomie des Nervensystems (*Arch. f. micr. Anatomie*, 1873, t. IX, p. 350).

solution d'acide osmique à 1 pour 200 ; puis il est dissocié au moyen des pinces, des ciseaux et des aiguilles, en suivant les indications qui ont été données un peu plus haut.

Le nerf sciatique de la grenouille, à cause de la bifurcation de sa partie inférieure, présente un avantage spécial pour l'application de ce procédé. Il suffit en effet de saisir ses deux branches avec des pinces et de les écarter pour obtenir des tubes nerveux complètement isolés qui, au moment où ils se séparent, sont régulièrement imprégnés par le réactif qui les enveloppe de toutes parts.

Dès que la dissociation des tubes nerveux est suffisante, ce qui exige une minute à peine, ils sont portés dans l'eau distillée, disposés sur une lame de verre et recouverts d'une lamelle, l'eau ou une solution de picrocarminate servant de liquide additionnel. Si ce dernier réactif est employé, après un séjour de vingt-quatre heures dans une chambre humide, les éléments seront convenablement colorés et fourniront une préparation persistante, lorsque l'on aura substitué lentement la glycérine au picrocarminate.

Les noyaux des segments interannulaires et les cylindres-axes, ces derniers surtout lorsqu'ils ont été complètement isolés par la dissociation, sont bien colorés. Ce résultat ne pourrait être obtenu si les tubes nerveux avaient séjourné longtemps dans l'acide osmique, et c'est la raison pour laquelle ce procédé de coloration n'a pas été indiqué un peu plus haut, lorsqu'il a été question de la dissociation des nerfs après macération prolongée dans ce réactif.

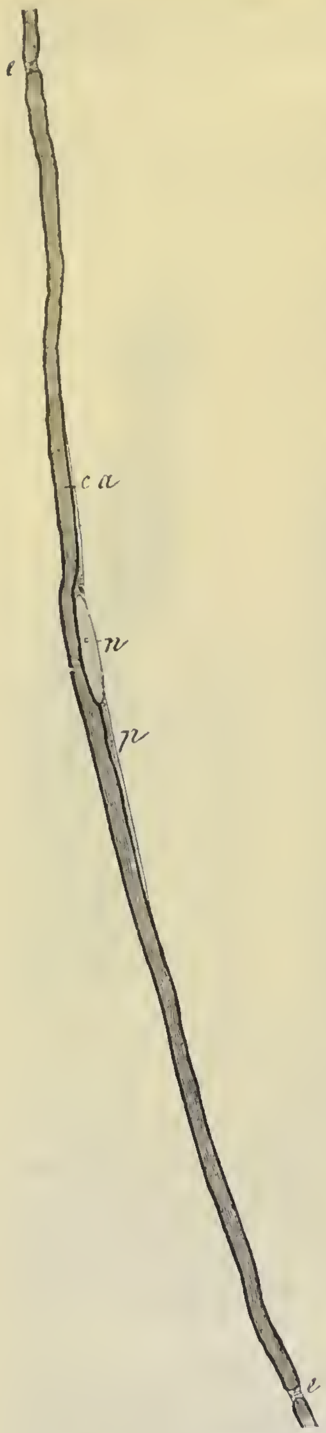


Fig. 257. — Tube nerveux du sciatique du lapin nouveau-né, isolé après une macération de 24 heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. — *e. e*, étranglements annulaires; *n*, noyau du segment interannulaire; *p*, protoplasma qui l'entoure; *ca*, portion centrale claire du tube nerveux correspondant au cylindre-axe. — 400 diam.

Cette méthode a encore pour avantage de faire distinguer plus nettement que n'importe quelle autre les incisures obliques. Les segments qu'elles séparent, *segments cylindroconiques*, se recouvrent comme les tuiles d'un toit et se terminent par des angles aigus, soit sous la gaine de Schwann, soit à la surface du cylindre-axe (*i*, fig. 258).

Si, immédiatement après avoir isolé les tubes nerveux dans la solution osmique, on les examine dans l'eau, les incisures paraissent élargies, et, entre les deux segments de myéline colorés en noir qu'elles séparent, il s'est formé un espace parcouru par des filaments transparents et incolores qui passent de l'un des segments à l'autre. Ces filaments semblent sortir de la myéline, et sont assez comparables à ceux

qui s'échappent de l'extrémité des tubes nerveux sectionnés, examinés frais et dans l'eau. Ils se modifient bientôt, se gonflent, se fondent les uns avec les autres, et deux segments voisins se trouvent alors séparés par un espace clair et incolore.

La longueur des segments cylindro-coniques est très variable : quelquefois on en compte quatre ou cinq à peu près d'égale dimension, disposés à la suite l'un de l'autre; puis cette série est interrompue par un segment très long ou par un segment très court. Par leurs extrémités, qui sont toujours en forme de cônes allongés, pleins ou creux, ils s'emboîtent les uns dans les autres. On rencontre de ces segments qui se terminent d'un côté par un cône plein, de l'autre par un cône creux, mais il en est d'autres qui possèdent des cônes creux ou des cônes pleins à leurs deux bouts.

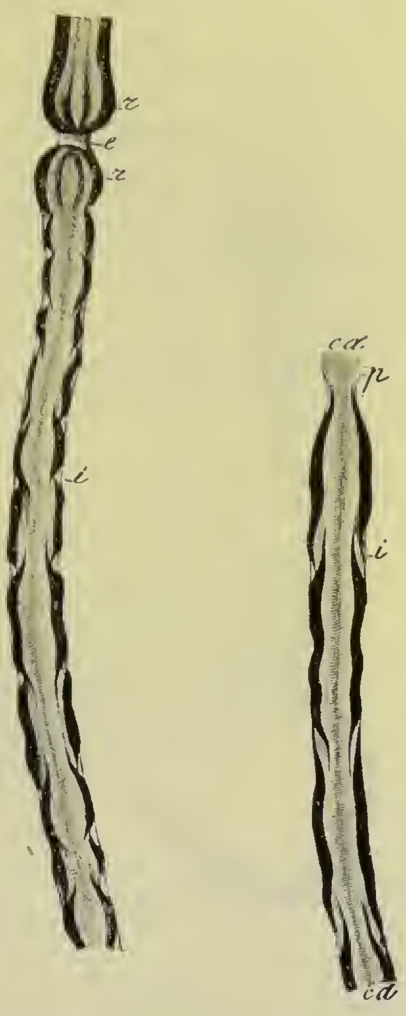


Fig. 258. — Tubes nerveux du sciatique de la grenouille, dissociés directement dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. — *e*, étranglement annulaire : *r*, *r*, renflements terminaux munis de côtes saillantes; *i*, incisures obliques. Le cylindre-axe, *ca*, a été mis en liberté; le segment cylindro-conique qui le recouvre à ce niveau s'amincit progressivement en *p* et s'applique exactement sur sa surface. — 350 diam.

Parfois, en pratiquant la dissociation des tubes nerveux au sein de l'acide osmique, il arrive que la membrane de Schwann est rompue et détachée de ces tubes dans une partie de leur longueur. Les segments cylindro-coniques, qui ne sont plus maintenus à leur périphérie, éprouvent un léger gonflement, se séparent un peu les uns des autres, et paraissent disposés le long du cylindre-axe comme les grains d'un chapelet (fig. 259). Quelques-uns d'entre eux présentent une échancrure *i'*, qui correspond à une incisure incomplète. De ce fait il semble résulter que les incisures qui commencent à la surface de la gaine médullaire ne s'étendent pas nécessairement jusqu'au cylindre-axe.

Entre les noyaux qui occupent le milieu des segments interannulaires et les segments cylindro-coniques il n'y a pas de rapport constant; ces noyaux peuvent se trouver à la partie centrale d'un segment cylindro-conique ou à cheval sur deux de ces segments, c'est-à-dire au niveau d'une incisure[1].

1. D'après Lanterman (*loc. cit.*), qui un des premiers s'est occupé des incisures de Schmidt, les étranglements annulaires ne seraient qu'un cas particulier de ces incisures, et devraient dès lors être considérés simplement comme des incisures plus profondes que les autres. Il a même soutenu que chaque segment cylindro-conique possède un noyau distinct. Mais la plus simple observation suffit à démontrer que c'est là une erreur; il est même difficile d'en apprécier l'origine.

Certains cylindres-axes se présentent complètement dénudés dans les préparations obtenues par dissociation directe dans l'acide osmique. Après qu'ils ont été soumis à l'action du picrocarminate, on reconnaît qu'ils possèdent un bord mince incolore homogène, tandis que leur partie médiane est colorée en rouge et présente une striation vague longitudinale ou légèrement oblique. Quelquefois aussi, il reste à leur surface de petites portions des segments cylindro-coniques qui y forment comme des écailles. Ces écailles constituent une sorte de gaine irrégulière qui a été décrite par Kuhnt[1], tandis que la bordure claire homogène semble correspondre à une autre gaine dont l'existence a été signalée il y a longtemps déjà par Mauthner[2].



Fig. 259. — Tube nerveux du sciatique de la grenouille, isolé par dissociation dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. — La membrane de Schwann a été enlevée dans une certaine étendue du tube nerveux : les segments cylindro-coniques, *se*, sont gonflés et séparés les uns des autres par les incisures agrandies *i*; *i'*, échancrures de la gaine médullaire, ou incisures incomplètes. — 350 diam.

Il est certains faits relatifs au cylindre-axe et à ses rapports avec la gaine médullaire que l'on peut étudier seulement au moyen de coupes transversales et longitudinales de nerfs préalablement durcis.

Les procédés que l'on emploie pour durcir les nerfs ne diffèrent pas, dans ce qu'ils ont d'essentiel, de ceux dont on fait usage pour les autres tissus (voy. p. 75 et suiv.); les réactifs qui conviennent spécialement sont : l'acide chromique, le bichromate de potasse, le bichromate d'ammoniaque, l'acide osmique et l'alcool.

Un nerf maintenu en extension par un des procédés indiqués plus haut (voy. p. 557) est plongé dans 150 à 500 centimètres cubes d'une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. Au bout d'une semaine, il y a déjà acquis une consistance convenable. Deux, trois ou quatre semaines suffisent pour compléter le durcissement. Au sortir de la solution chromique, on le mettra pendant quelques heures dans l'eau pour enlever l'excès du réactif, puis on le portera dans l'alcool ordinaire. Des coupes transversales et longitudinales, pratiquées à l'aide d'un des procédés indiqués page 78 et suivantes, seront colorées par le carmin (p. 84) ou le picrocarminate (p. 87); puis elles seront montées dans le baume du Canada ou la résine dammare, après avoir été déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de térébenthine ou de girofle.

Dans les coupes transversales, on sera frappé de voir les cylindres-axes,

1. *Kuhnt*, Die peripherische markhaltige Nervenfaser (*Arch. für micr. Anat.*, 1876, t. XIII, p. 427).

2. *Mauthner*, Beitraege zur Kenntniss der morphol. Elemente des Nervensystems (*Académie des sciences de Vienne*, t. XXXIX).

qui à l'état normal sont cylindriques et qui par conséquent devraient être représentés par des cercles, avoir une forme étoilée (fig. 260). Il s'agit là d'une modification produite par le réactif, comme on peut s'en assurer en observant des coupes longitudinales. Les cylindres-axes s'y présentent sous la forme de rubans déchiquetés, et paraissent limités par des surfaces concaves qui laissent entre elles des dents ou des crêtes saillantes. Sous l'influence de l'acide chromique faible, la myéline s'est altérée et a formé des boules, analogues à celles que l'eau y détermine, et qui, remplissant le sac limité par la gaine de Schwann, ont comprimé le cylindre-axe, comme le feraient des billes placées autour d'un bâton de cire à modeler. Grâce au durcissement consécutif, le cylindre-axe conserve la forme qu'il a reçue.

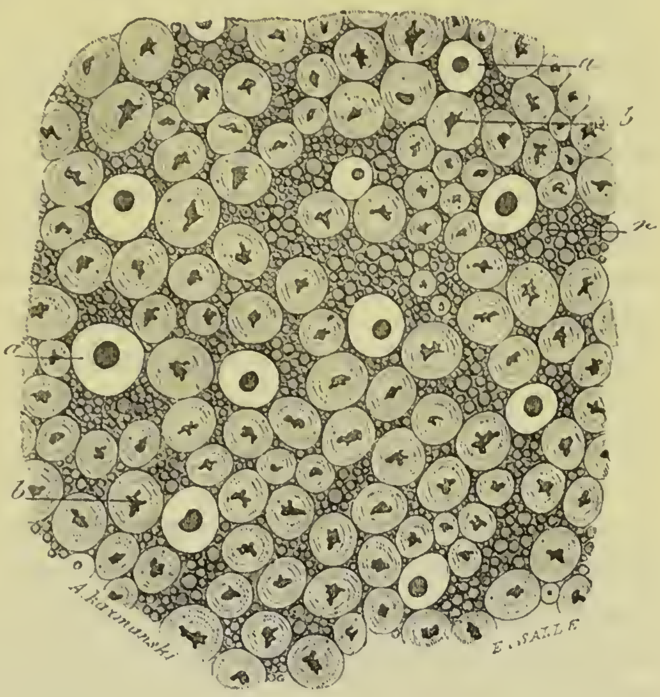


Fig. 260. — Coupe transversale du sciatique du chien, faite après durcissement du nerf par l'acide chromique à 2 pour 1000 et l'alcool. La coupe a été colorée par le picrocarminate et montée dans la résine dammare après avoir été déshydratée par l'alcool et éclaircie par l'essence de girofle. — *a*, tubes nerveux sectionnés dans le voisinage immédiat des étranglements annulaires; *b*, tubes nerveux sectionnés dans différents points de la longueur des segments interannulaires; *r*, fibres de Remak. — 460 diam.

Revenons aux coupes transversales. On y remarque toujours quelques tubes nerveux qui se montrent avec un aspect bien différent de celui qui vient d'être décrit. Leurs cylindres-axes, au lieu d'être irréguliers et anguleux, apparaissent sous la forme de cercles réguliers. La substance qui les entoure et qui s'étend jusqu'à leur membrane de Schwann est claire, transparente, à peine teintée; tandis que, dans les autres tubes, ceux dont il a été question d'abord, il existe dans les mêmes points une matière réfringente et colorée en brun plus ou moins foncé. Il ne faudrait pas conclure de la différence de ces images à l'existence dans les nerfs de deux espèces de tubes nerveux. Celles de ces images qui sont caractérisées par un cylindre-axe étoilé correspondent à des tubes nerveux sectionnés dans le corps même de leurs segments interannulaires, tandis que les autres sont fournies par des tubes coupés dans le voisinage immédiat de leurs étranglements. En ces points, la myéline a été refoulée par suite de la pénétration du réactif au niveau des étranglements annulaires, ainsi qu'on peut s'en assurer en examinant des tubes nerveux isolés par dissociation après que les nerfs ont été durcis par l'acide chromique.

La solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, que Gerlach a

recommandée pour l'étude du système nerveux central, peut être employée pour durcir les nerfs. Elle est bien préférable aux solutions d'acide chromique, parce qu'elle n'altère pas la forme des cylindres-axes, et qu'elle permet de colorer ensuite rapidement et régulièrement les coupes par le carmin ou le picrocarminate d'ammoniaque. La quantité de la solution de bichromate que l'on doit employer pour durcir un nerf doit être relativement considérable (100 à 200 centimètres cubes en moyenne); le durcissement s'y produit avec une très grande lenteur. Plusieurs mois sont nécessaires pour que le nerf ait une consistance convenable, et, même après un an de macération dans ce liquide, les pièces sont encore excellentes pour l'étude.

Les coupes transversales doivent être faites à main levée après inclusion dans la moelle de sureau, ou mieux encore dans un mélange de cire et d'huile. Il convient même de combiner ces deux procédés d'inclusion. Pour cela, on creuse, sur une des faces planes d'un morceau de moelle de sureau, une cavité profonde dans laquelle on place le segment de nerf. Celui-ci étant maintenu au moyen d'une épingle, on verse dans la cavité le mélange de cire et d'huile porté à une température qui ne doit pas excéder notablement son point de fusion. Lorsque ce mélange s'est solidifié par le refroidissement, l'épingle est enlevée, et le segment nerveux se trouve fixé. Ce procédé permet de faire des coupes extrêmement minces : Une première section ayant régularisé la surface des trois corps qui se trouvent associés (moelle de sureau, mélange de cire et d'huile, nerf), pour pratiquer la seconde section qui doit dégager la coupe, on déprime avec le plat du rasoir la surface de la moelle de sureau de manière à faire saillir d'une quantité aussi petite que possible la cire et le nerf, et on les tranche d'un seul coup, avec une sûreté de main d'autant plus grande que le rasoir repose sur un plan qui le guide. La moelle de sureau ainsi employée tient lieu de microtome, et présente sur ce dernier instrument plusieurs avantages : elle n'altère pas le tranchant du rasoir; elle permet de faire des coupes beaucoup plus minces et d'en changer à volonté l'orientation. C'est surtout en vue de ce dernier avantage que ce procédé, qui n'a pas été indiqué dans les méthodes générales, devait être donné ici, car on va voir qu'il est parfois nécessaire de faire des sections de nerfs légèrement obliques.

En effet, lorsque des coupes transversales complètes, faites sur un nerf durci par le bichromate d'ammoniaque, sont placées dans l'eau, on remarque que la surface de chaque faisceau nerveux d'un diamètre notable se déjette en devenant convexe ou concave. La coupe étant alors placée sur une lame de verre, si on la recouvre d'une lamelle, celle-ci efface bien les voussures qui se sont produites sur chaque faisceau nerveux, mais elle le fait en déterminant des plis qui altèrent l'image et souvent même rendent impossible l'observation des éléments.

Pour obtenir des préparations dans lesquelles les tubes nerveux sont régulièrement étalés, même lorsque l'on opère sur un nerf qui a de gros faisceaux nerveux, comme le sciatique du lapin, du chien, etc., il faut diriger obliquement le rasoir, de manière à faire une coupe de plus en plus mince

et qui se termine avant d'avoir atteint toute la circonférence de l'un des gros faisceaux. Les tubes nerveux de ce faisceau peuvent alors s'écarter les uns des autres et se disperser régulièrement en entr'ouvrant l'anneau incomplet de la gaine lamelleuse. Il suffit que ces coupes aient séjourné ensuite une demi-heure dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100 pour que leur coloration soit complète. Lorsqu'elles auront été débarrassées de l'excès de la matière colorante par un lavage à l'eau ordinaire, elles pourront être montées, soit dans la glycérine, soit dans la résine dammare.

Dans la glycérine, les tubes nerveux coupés en travers montrent nettement deux détails de leur structure, sur la signification desquels on discute encore : l'un est relatif au cylindre-axe, l'autre à la gaine médullaire.

Le cylindre-axe s'y présente sous la forme d'un cercle rouge à peu près régulier, entouré d'un anneau mince, incolore, qui le sépare de la myéline; ce qui conduit à penser qu'il est composé de deux substances : l'une centrale qui se colore par le carmin, l'autre périphérique dans laquelle ce réactif ne détermine pas de coloration. Cette dernière correspond à la gaine de Mauthner (voy. p. 564).

La gaine médullaire paraît formée de couches concentriques. Ces couches ne sont pas assez nettes pour qu'il soit possible de déterminer exactement leur nombre et leur épaisseur. Aussi, comme on les voit d'une manière beaucoup plus distincte après l'action de l'acide osmique, c'est à l'aide de ce réactif qu'il convient de les étudier.

Lorsqu'un nerf contenant beaucoup de tubes nerveux à myéline a séjourné dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, assez longtemps pour que tous ses tubes soient fixés, il n'y a cependant pas pris une consistance suffisante pour qu'il soit possible d'y pratiquer des coupes transversales. On pourra lui faire acquérir cette consistance en l'immergeant pendant vingt-quatre heures dans l'alcool, puis vingt-quatre heures encore dans une solution légère de gomme arabique, et enfin un jour entier dans l'alcool fort.

Les coupes doivent être extrêmement minces; pour les réussir, il faut suivre le procédé indiqué un peu plus haut (p. 566). On obtiendra ainsi des parties de la coupe d'une minceur extrême, sur lesquelles on pourra faire une bonne observation. A mesure qu'elles sont enlevées par le rasoir, les coupes sont placées dans l'alcool, mises sur la lame de verre dans quelques gouttes du même liquide, que l'on enlève ensuite avec du papier à filtrer; on laisse alors tomber sur la préparation une goutte d'eau et on place la lamelle; puis, sur un des bords de cette dernière, on dépose une ou deux gouttes d'eau phéniquée et l'on place le tout dans une chambre humide. Vingt-quatre heures après, la petite quantité de gomme que renfermait la préparation étant dissoute, on remplace l'eau par de la glycérine.

Les préparations que l'on obtient ainsi présentent, dans leurs parties les plus minces, des tubes nerveux dont les aspects différents permettent d'apprécier la disposition et la signification des couches concentriques de la gaine médullaire. Dans certains de ces tubes (fig. 261), la membrane de

Schwann forme une circonférences régulière à l'intérieur de laquelle la gaine de myéline dessine un anneau fortement coloré en noir. Au centre de cet anneau se trouve le cylindre-axe, sous la forme d'un cercle granuleux dont le diamètre est beaucoup plus considérable que si la préparation avait été faite par d'autres procédés de durcissement (acide chromique, bichromate d'ammoniaque, etc.). Dans d'autres tubes, la gaine médullaire, au lieu d'être représentée par un seul anneau, paraît formée de deux anneaux concentriques dont l'interne est le plus mince; ils sont séparés l'un de l'autre par une bande claire. Dans quelques tubes, il existe une disposition semblable à la précédente, mais avec cette différence que l'anneau externe de la gaine médullaire est le plus mince, tandis que l'anneau interne est le plus épais. Il arrive aussi que les deux anneaux sont d'égale épaisseur. Enfin, il est un dernier aspect que présentent les tubes nerveux : la gaine médullaire n'est pas décomposée en anneaux; occupée à son centre par le cylindre-axe, dont le diamètre est singulièrement réduit (voy. également fig. 256), elle est moins noire que dans les autres tubes; à la périphérie, elle forme une série de festons convexes.

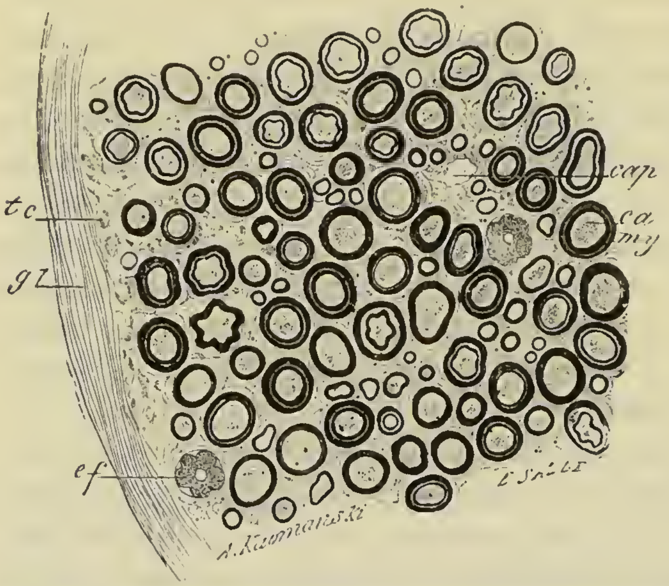


Fig. 261. — Coupe transversale du sciatique du chien, faite après durcissement du nerf par l'action successive de l'acide osmique à 1 pour 100, de l'alcool, de la gomme et de l'alcool. Conservation dans la glycérine. — *gl*, gaine lamelleuse; *tc*, tissu conjonctif intrafasciculaire; *ca*, cylindre-axe; *my*, gaine de myéline; *ef*, tube nerveux coupé au voisinage d'un étranglement annulaire; *cap*, capillaire sanguin. — 400 diam.

Lorsque l'on connaît les étranglements annulaires et les incisures obliques, il est facile de donner l'explication de ces différents aspects que présentent les tubes nerveux. Si nous supposons un de ces tubes sectionné à la partie médiane d'un segment cylindro-conique, la gaine médullaire coupée à ce niveau formera un anneau simple; si, au contraire, la section a atteint un tube nerveux au niveau d'une incisure, la gaine médullaire formera deux anneaux, l'interne correspondant au segment cylindro-conique emboîté, l'externe au segment emboîtant. L'épaisseur relative de ces anneaux devra varier suivant que la section aura atteint un point de l'incisure plus ou moins profond. Quant à la dernière des formes affectées par les tubes nerveux, elle dépend de ce que ces tubes ont été coupés un peu au-dessus ou un peu au-dessous d'un étranglement annulaire, au niveau de l'un des renflements qui le limitent, les festons périphériques correspondant aux côtes que possèdent ces renflements et qui dépendent de sillons longitudinaux creusés dans le protoplasma situé au-dessous de la membrane de Schwann.

Nous devons insister sur ce fait, que les cylindres-axes, dans les coupes transversales des nerfs faites après l'action de l'acide osmique, ont un diamètre relativement considérable. Ce diamètre correspond à peu près exactement à celui du ruban central clair que montrent les tubes nerveux dissociés après macération dans le même réactif.

On peut du reste s'assurer, en examinant des nerfs vivants, sans addition d'aucun liquide, que l'acide osmique, en fixant les cylindres-axes, leur conserve à peu près leur diamètre normal. Cet examen peut être fait sur des parties vivantes, des muscles par exemple, enlevées à un animal à sang froid que l'on vient de sacrifier. Mais, dans ces conditions, s'il est toujours difficile et insuffisant, soit parce que les tubes nerveux sont mélangés à d'autres éléments qui les masquent, soit parce que ces éléments, surtout s'il s'agit de fibres musculaires, en revenant sur eux-mêmes, déterminent le retrait ou plutôt le tassement des nerfs qui les accompagnent. Aussi est-il préférable de faire l'étude des nerfs vivants dans le poumon de la grenouille, en utilisant l'appareil que Holmgren a imaginé pour observer la circulation dans cet organe (voy. p. 459). Il est nécessaire seulement que le poumon soit gonflé (ce qui se fait à la volonté de l'observateur) jusqu'à l'arrêt de la circulation capillaire. Dans ces conditions, les petits nerfs à myéline qui parcourent en tous sens le sac pulmonaire étant régulièrement tendus, la plupart des détails de leur structure peuvent être exactement appréciés. C'est ainsi que les étranglements annulaires, les noyaux des segments et le protoplasma qui les entoure, les incisures obliques, sont bien visibles, surtout si l'observation porte sur des nerfs qui ne contiennent que quelques tubes à myéline, et si elle est faite avec un bon objectif à immersion et à correction.

Cette observation suffit à démontrer que toutes les dispositions qui ont été reconnues dans les tubes nerveux à myéline, à l'aide des réactifs variés dont il a été question jusqu'ici, ont une existence réelle et ne doivent pas être considérées comme produites par ces réactifs.

Les tubes nerveux examinés ainsi à l'état vivant montrent sur leurs bords un double contour bien marqué et un large ruban central. Le double contour correspond à la gaine médullaire, le ruban central au cylindre-axe. Il est facile d'établir que le double contour limite en dedans et en dehors la gaine médullaire. En effet, les incisures obliques, qui appartiennent à cette gaine et dépendent absolument d'elle, s'étendent jusqu'au contour interne et ne le dépassent pas. Le point où elles s'arrêtent en dedans est nécessairement la limite du cylindre-axe et de la gaine médullaire. Le diamètre relativement considérable du cylindre-axe peut donc être reconnu dans les nerfs vivants comme dans les nerfs traités par l'acide osmique, et cette observation permet d'apprécier la haute valeur, bien connue du reste, de ce dernier réactif comme fixateur des éléments les plus délicats de l'organisme.

L'observation des tubes nerveux vivants peut être également faite dans la membrane rétrolinguale de la grenouille maintenue en extension au moyen d'un anneau de platine (voy. p. 62).

On y observe des tubes nerveux qui vont se distribuer aux muscles de la membrane et qui, dans une partie de leur trajet, y cheminent tout à fait isolés. On y reconnaît tous les détails de la structure de ces éléments et, entre autres, un fait sur lequel nous n'avons pas insisté encore et qui, cependant, n'est pas sans importance. Le cylindre-axe, dans la plus grande étendue des segments interannulaires, est relativement large et la bordure de myéline y est mince ; mais, au niveau des étranglements annulaires, le cylindre-axe diminue progressivement et présente lui-même un rétrécissement considérable.



Fig. 262. — Tube nerveux du sciatique du chien adulte, durci par le bichromate d'ammoniaque, isolé par dissociation et coloré ensuite par l'hématoxyline ancienne. — c, cylindre-axe ; s, membrane de Schwann ; r, réticulum ou gaine cornée.

Après avoir observé un tube nerveux à l'état vivant dans la membrane rétrolinguale, on peut enlever la lamelle qui la recouvre et la fixer au moyen des vapeurs d'acide osmique (voy. p. 76). Après l'action de ce réactif, on remarque, en examinant la préparation, que la gaine de myéline est colorée en brun, mais que la forme de tous les détails est restée la même. On arrive de cette façon à prouver d'une manière absolument rigoureuse que l'acide osmique bien appliqué fixe les tubes nerveux dans la forme qu'ils ont à l'état vivant.

A cette étude expérimentale de la fibre nerveuse à myéline, il convient d'ajouter la description de certaines dispositions découvertes depuis la publication de la première édition de cet ouvrage : la gaine cornée d'Ewald et Kühne[1] et les filaments spiraux de Rezzonico[2] et Golgi[3].

Ewald et Kühne ont attiré l'attention sur un réticulum chromatique qui se montre dans les tubes nerveux à la place de la myéline lorsque les nerfs ont été traités successivement par l'alcool ordinaire, l'alcool bouillant et l'éther et qu'après avoir été séparés par dissociation on les colore par le carmin, l'hématoxyline ou d'autres matières colorantes. Ces auteurs ont pensé que ce réseau était préformé, c'est-à-dire qu'il existait dans les tubes nerveux vivants et que la myéline était contenue dans ses mailles. Ils l'ont vu résister à la digestion artificielle par la trypsine et ils ont pensé qu'il était formé par de la kératine. Aussi l'ont-ils désigné sous le nom de réseau corné ou réseau noueux. Depuis que ces auteurs ont publié leurs intéressantes recherches, la question du réseau corné a été reprise par un certain nombre d'histologistes,

1. *Ewald* et *Kühne*. Die Verdauung als histologische Methode (*Verhandl. der Natur-hist. medicin. Vereins zur Heidelberg*, 1877, p. 451).

2. *Rezzonico*. Sulla struttura delle fibre nervose del midollo spinale (*Arch. p. le Scienze mediche*, t. IV, 1881, p. 78).

3. *Golgi*. Sulla struttura delle fibre nervose midollate periferiche e centrali (*Arch. p. le cienze mediche*, t. IV, 1881, p. 221).

notamment, Froriep[1], Hesse[2], Pertik[3], L. Gerlach[4], Waldstein et Weber[5]. De l'ensemble de leurs recherches il résulte que le réseau noueux n'est pas préformé dans les tubes nerveux ; qu'il s'y produit aux dépens de la myéline sous l'influence des réactifs employés.

Je reproduis ici (fig. 262) un dessin qui a été fait d'après une de mes préparations en 1876. Cette préparation a été obtenue comme il suit : un segment du sciatique du chien a été placé dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. Trois mois après, il a été dissocié dans l'eau, et les tubes nerveux isolés ont été colorés sur la lame de verre au moyen de l'hématoxyline ancienne, déshydratés par l'alcool, éclaircis par l'essence de girofle et montés dans la résine dammare. Voici comment j'interprétais cette préparation : Sous l'influence du bichromate d'ammoniaque, la myéline a formé des boules et la substance laissée entre elles fixée par le réactif, colorable par l'hématoxyline, donnerait nécessairement l'apparence d'un réseau.

D'après Rezzonico et Golgi, les incisures seraient occupées par des filaments spéciaux enroulés en spirale sur le cône plein du segment cylindro-conique. Pour observer cette disposition, Golgi recommande la méthode suivante : Chez un animal que l'on vient de sacrifier, un lapin de préférence, on détache un nerf avec toutes les précautions nécessaires pour ne pas l'altérer et on l'immerge dans un liquide composé de :

Solution de bichromate de potasse à 2 pour 100.	10 parties.
Solution d'acide osmique à 1 pour 100.	2 parties.

Quand le nerf a pris dans ce mélange un peu de consistance, ce qui demande une heure environ, on le divise en segments ayant une longueur d'un centimètre en moyenne et on le laisse séjourner encore dans le même liquide un temps qui doit varier entre six heures et vingt-quatre heures, avant de le traiter par une solution de nitrate d'argent à 1 pour 200. Lorsqu'il a séjourné quelques heures dans cette solution, on le place dans l'eau, on le dissocie de manière à obtenir des tubes nerveux isolés que l'on monte dans la résine dammare après les avoir deshydratés par l'alcool et éclaircis par l'essence de térébenthine.

Il est encore bien difficile de se faire une opinion sur la constitution et la signification physiologique de cette singulière disposition.

FIBRES DE REMAK

Dans tous les nerfs mixtes, il existe, en proportion variée, des fibres

1. *Froriep.* Ueber das Sarkolemm und die Muskel Kerne (*Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1878, p. 416).
2. *Hesse.* Zur Kenntniss der peripher. markhalt. Nervenfaser (*Arch. f. Anat. u. Phys.*, 1879, p. 341).
3. *Pertik.* Untersuchungen über Nervenfasern (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. XIX, 1881, p. 183)
4. *Leo Gerlach.* Zur Kenntn. der markhalt. Nervenfaser. (*Tagebl. d.* 51 *Versamml. deutsch Naturf.* 1878, p. 261).
5. *Waldsteim* et *Weber.* Études histochimiques sur les tubes nerveux à myéline (*Arch. de Physiologie*, 1882, t. X, p. 1).

nerveuses qui ne possèdent pas de gaine médullaire et qui sont connues sous le nom de fibres nerveuses sans moelle ou de fibres de Remak[1].

Elles sont très abondantes dans tous les nerfs organiques, qu'ils appartiennent au système grand sympathique ou au système cérébro-spinal ; le nerf pneumogastrique, par exemple, en contient une forte proportion, et pour les étudier il convient d'une façon toute spéciale. Chez l'homme, le chien, le lapin, ce nerf est constitué par un seul faisceau nerveux, et lorsqu'on a divisé la gaine lamelleuse unique qui l'enveloppe, il est facile d'en dissocier les fibres. Cette dissociation peut être faite sur le nerf frais ou modifié par macération préalable dans des solutions d'acide picrique, d'acide osmique, de bichromate d'ammoniaque, etc. Pour en obtenir de bons résultats, il faut déjà avoir acquis quelques notions sur la forme et les rapports des éléments que l'on veut isoler, ce qui est, soit dit en passant, une règle générale pour la dissociation de la plupart des tissus de l'organisme. En ce qui regarde la préparation des fibres de Remak, il importe de savoir que ces fibres ne sont pas simplement placées les unes à côté des autres, comme le sont les tubes nerveux à myéline ; mais qu'elles forment dans l'intérieur du nerf, en s'unissant et en se divisant, un vaste plexus dont les mailles sont dans tous les plans. De cette disposition, il résulte que, en cherchant à séparer au moyen des aiguilles les divers éléments qui entrent dans la constitution d'un nerf, on doit nécessairement déchirer un grand nombre des branches ou des fibres nerveuses sans moelle qui forment ce plexus. Il n'en reste même que des débris, le plus souvent informes, si la dissociation est poussée un peu trop loin.

Pour observer les fibres nerveuses sans moelle dans leur ensemble, il est indispensable d'agir avec des ménagements : le meilleur moyen consiste à

1. Lorsque, en 1838, Remak (*Observationes anatomicæ et microscopicæ de systematis nervosi structura*. Berlin, 1838) annonça qu'il avait trouvé dans le système sympathique des fibres que l'on devait considérer comme des fibres nerveuses sans myéline, les histologistes lui firent une vive opposition. C'est ainsi que Valentin chercha à établir que les éléments considérés par Remak comme des fibres nerveuses étaient simplement des fibres de tissu connectif ; son opinion fut généralement acceptée. Cependant Henle, dans son Anatomie générale, décrivit et figura les fibres nerveuses sans moelle ; mais sa description, comme on le reconnaîtra par l'exposé même des faits, n'est pas du tout d'accord avec celle de Remak.

Aujourd'hui, grâce surtout à l'influence des notions empruntées à l'histologie comparée, tous les histologistes sont convaincus de l'existence de fibres nerveuses sans myéline. Toutefois Kölliker (voy. son *Traité d'histologie*, 2e édit. franç., p. 322) ne s'est pas encore entièrement rendu. Pour cet auteur, il y aurait dans les nerfs deux espèces de fibres que l'on pourrait être tenté de prendre pour des fibres sans myéline ; les unes rectilignes, bien individualisées, les autres irrégulières et anastomosées entre elles de manière à former un réseau. Les premières seules seraient des fibres nerveuses. Quant aux fibres de la seconde espèce, celles qui sont réticulées et anastomosées et qui correspondent à la description de Remak, elles appartiendraient au tissu conjonctif. Ce tissu serait semblable au réticulum des ganglions lymphatiques (voy. p. 527) et formé comme lui de cellules ramifiées et anastomosées les unes avec les autres par leurs prolongements (tissu cytogène).

Aujourd'hui il n'est pas difficile de se convaincre que Remak était dans le vrai et que Kölliker s'est trompé ; il suffit pour cela de connaître la constitution du tissu conjonctif des nerfs. Ce tissu, en effet, loin d'être réticulé, est simplement formé de faisceaux connectifs ordinaires et de cellules plates, ainsi que je l'ai établi il y a quelques années (*Arch. de physiologie*, 1872, p. 438).

appliquer les aiguilles en un point du faisceau nerveux déjà divisé, et à les écarter de manière à former en ce point une sorte de fenêtre. Celle-ci, à un examen fait à un faible grossissement, paraîtra traversée par des fibres de Remak allant en différents sens et formant une sorte de treillis. Une observation attentive à un grossissement plus fort permettra de reconnaître que ces fibres sont anastomosées les unes avec les autres. Les mailles du réseau qu'elles forment, bien qu'assez irrégulières, ont toujours leur grand diamètre parallèle à l'axe du nerf. Ces mailles étroites, virtuelles pour ainsi dire et très allongées à l'état normal, ont été élargies dans le sens transversal par le procédé de dissociation qui a été employé, et c'est grâce à lui qu'il est possible de les bien distinguer.

Les travées que forment les fibres de Remak en s'anastomosant sont de différents diamètres : tantôt elles sont extrêmement minces, tantôt elles ont l'épaisseur d'un tube nerveux à myéline de volume moyen ; elles présentent du reste toutes les dimensions intermédiaires. Dans ces travées, on distingue des noyaux ovalaires, qui se présentent souvent de profil et paraissent alors simplement appliqués à leur surface. Leur distribution n'a rien de régulier, et la distance qui les sépare est très variable.

Isolées par dissociation après macération du nerf dans l'acide picrique et colorées par le picrocarminate d'ammoniaque, les fibres de Remak présentent des stries longitudinales irrégulières, granuleuses et peu nettes ; elles ont une teinte jaune orangé, tandis que les fibres du tissu conjonctif que l'on observe à côté d'elles sont à peu près incolores.

Si, après avoir enlevé l'excès de la matière colorante, on traite par l'acide acétique, ou si, comme on le faisait habituellement autrefois, on ajoute le même réactif à des fibres de Remak dissociées dans l'eau, on les voit se gonfler, devenir transparentes, et, lorsqu'elles sont juxtaposées, former, en se fondant les unes avec les autres, des rubans clairs parsemés de noyaux. Ce sont des groupes de fibres ainsi modifiés qui ont été figurés par Henle, et qui ont été pris par cet auteur et par la plupart des histologistes qui l'ont suivi pour des fibres nerveuses simples, c'est-à-dire complètement individualisées. Aussi ont-ils laissé de côté la description de Remak, et en ont-ils donné une nouvelle qui n'est nullement en rapport avec la nature.

Si l'on dissocie un nerf contenant des fibres de Remak après qu'il a séjourné un temps convenable dans une solution d'acide osmique, on constate que, tandis que les tubes nerveux à myéline, même d'un diamètre très petit, présentent la coloration noire caractéristique, les fibres de Remak sont incolores. On doit en conclure que ces fibres ne contiennent pas de myéline, ou que, si elles en contiennent, cette substance n'y est pas en quantité assez grande pour donner lieu à une coloration marquée.

A ce procédé, qui permet de faire une étude suffisante des fibres nerveuses sans moelle, il faut en préférer un autre, dont il a été question à propos des tubes nerveux à myéline, et qui consiste à dissocier directement le nerf frais dans la solution d'acide osmique. On réalise par ce moyen un double avantage. D'une part, les fibres nerveuses sont saisies par le réactif, dans toute leur

étendue, à l'état absolument frais; d'autre part, comme l'acide osmique n'agit que pendant un temps très court, il est possible de colorer ensuite les éléments par le carmin. Une petite portion du nerf pneumogastrique, dissociée dans la solution d'acide osmique, lavée à l'eau distillée, placée sur une lame de verre dans une ou deux gouttes d'une solution de picrocarminate à 1 pour 100, recouverte d'une lamelle et déposée pendant vingt-quatre heures dans une chambre humide pour éviter l'évaporation, la glycérine étant ensuite substituée au picrocarminate, fournit une préparation démonstrative dans laquelle il est facile d'observer le réseau des fibres de Remak.



Fig. 263. — Portion du réseau des fibres de Remak du pneumogastrique du chien, isolée par dissociation directe du nerf dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Coloration au picrocarminate. Conservation dans la glycérine. — *n*, noyau; *p*, protoplasma qui l'entoure; *b*, stries qui correspondent à des fibrilles. — 400 diam.

On y reconnait que les travées du réseau, c'est-à-dire les fibres elles-mêmes, possèdent une striation longitudinale bien marquée. Ces fibres paraissent formées de fibrilles disposées les unes à côté des autres. Les noyaux ovalaires qui les recouvrent sont noyés dans une masse protoplasmique qui s'étend à la surface de la fibre et paraît pénétrer dans son intérieur. Il est facile de s'assurer que ces noyaux sont toujours appliqués à la surface des fibres. Parfois cependant ils paraissent être dans leur épaisseur; mais une observation attentive conduit à reconnaitre qu'ils sont en des points où deux fibres de Remak viennent de s'unir ou sont près de se séparer, de telle sorte que, situés au milieu d'une travée formée de deux fibres, ils appartiennent en réalité à l'une d'entre elles (voy. fig. 263).

Après qu'elles ont subi l'action de l'acide osmique et lorsqu'elles ont séjourné vingt-quatre heures dans le picrocarminate, les fibres de Remak ont une coloration faible; elle suffit néanmoins à les faire distinguer des fibres de tissu conjonctif. On peut les colorer plus fortement, tandis que les faisceaux connectifs restent incolores, en traitant la préparation par une solution faible de rouge d'aniline, et en la soumettant ensuite à l'action de la glycérine.

Lorsque des nerfs ont séjourné plusieurs mois dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, ils y acquièrent une certaine consistance, et cependant il est encore facile d'en isoler les éléments et de les colorer au moyen du picrocarminate d'ammoniaque. Dans ces préparations, les fibres de Remak se montrent avec un caractère tout spécial, qui permet également de les distinguer des fibres connectives. Elles y sont variqueuses (fig. 264), tandis que les fais-

ceaux connectifs ont conservé leur forme onduleuse et leur aspect soyeux caractéristique.

Ces varicosités, comparables à celles qui se produisent si facilement dans les fines branches des ramifications terminales des nerfs où elles sont bien connues de tous les histologistes, résultent d'une transformation particulière de la substance des fibrilles nerveuses. Les fibres de Remak, ou plutôt les travées du réseau qu'elles composent, sont formées, ainsi qu'on peut si bien le reconnaître dans des préparations obtenues au moyen de l'acide osmique, de fibrilles placées les unes à côté des autres. Sous l'influence du bichromate d'ammoniaque, il s'est fait dans ces fibrilles des vacuoles arrondies de diamètre variable, caractérisées, comme tout ce qu'on appelle vacuoles en histologie, par une réfringence moindre que celle de la substance voisine. Aussi deviennent-elles obscures quand on en éloigne l'objectif, bien qu'elles soient en réalité des corpuscules convexes. Ces vacuoles sont échelonnées le long des fibrilles nerveuses de manière à les rendre moniliformes, et, comme, dans une même fibre de Remak, elles ne se trouvent pas au même niveau sur les différentes fibrilles, leur ensemble donne une figure irrégulière dans laquelle il est difficile de saisir leur ordonnance par rapport à chaque fibrille.

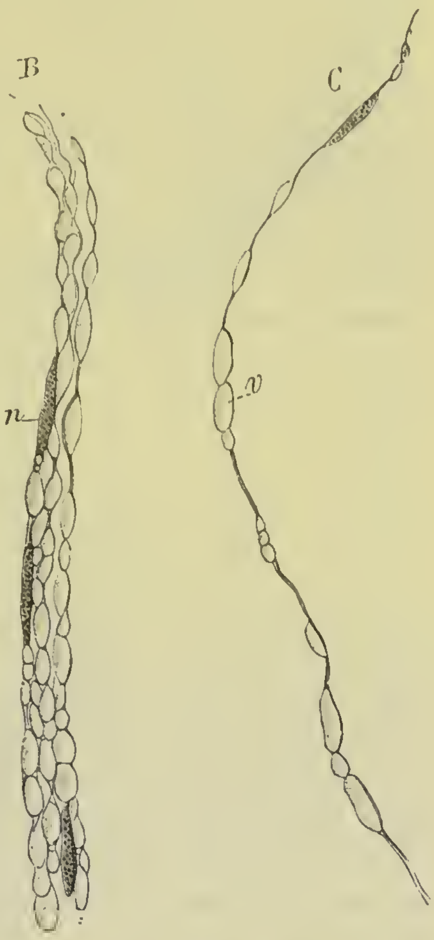


Fig. 264. — B, Faisceau de fibres de Remak, et C, fibre de Remak du pneumogastrique du chien, isolés après macération du nerf dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. Coloration par le picrocarminate, conservation dans la glycérine. — *v*, vacuoles; *n*, noyaux. — 400 diam.

Dans les coupes transversales de nerfs faites après durcissement par l'acide chromique ou le bichromate d'ammoniaque (voy. fig. 260), les fibres de Remak se montrent, après coloration par le carmin, sous la forme d'îlots rouges plus ou moins étendus, suivant que la préparation provient de tel ou tel nerf.

Quels que soient les nerfs que l'on considère, les îlots qui correspondent aux fibres de Remak sur les coupes transversales paraissent formés d'un très grand nombre de petits cercles à peu près d'égal diamètre, colorés en rouge et placés les uns à côté des autres. Ces cercles ne correspondent pas aux fibres de Remak elles-mêmes, mais aux fibrilles qui entrent dans leur composition.

TISSU CONJONCTIF DES NERFS

Dans les nerfs, le tissu conjonctif se présente sous trois formes. Entourant immédiatement les faisceaux nerveux, il se condense pour constituer les lames de la *gaine lamelleuse*. Unissant les faisceaux nerveux, soit entre eux, soit au tissu conjonctif voisin, il se montre formé de gros faisceaux connectifs recouverts de cellules plates, entremêlés de fibres élastiques et souvent de cellules adipeuses, *tissu périfasciculaire*. Dans l'intérieur des faisceaux nerveux, il existe des faisceaux connectifs d'une grande minceur, qui ne sont jamais mélangés de fibres élastiques ni de cellules adipeuses, *tissu intrafasciculaire*. Chacune de ces formes du tissu conjonctif exige une description spéciale.

Gaine lamelleuse. — Les nerfs les plus fins (il en est qui, au voisinage de leurs terminaisons périphériques, sont réduits à un seul tube nerveux) possèdent une gaine lamelleuse simple, constituée par une membrane connective enroulée en forme de tube. Sur les faisceaux nerveux d'un diamètre notable, cette gaine paraît formée de plusieurs lames superposées. Enfin, sur les plus gros faiseaux nerveux, et même quelquefois sur de petits nerfs situés superficiellement ou dans des régions qui sont soumises à des frottements ou à des pressions (la main, les doigts, la plante du pied), cette gaine acquiert une épaisseur considérable, et se montre composée d'un grand nombre de couches concentriques.

Henle a signalé, il y a déjà longtemps, la gaine mince et simple qui entoure les nerfs les plus fins, et que l'on peut y observer sans qu'il soit nécessaire de les diviser ou de les dissocier.

Il a décrit ces gaines comme « des tubes membraneux, dépourvus de structure, hyalins ou faiblement granulés, à la surface desquels se voient des noyaux de cellules étirés en long. J'ai vu de ces tubes, ajoute-t-il, qui ne renfermaient que deux fibres primitives[1]. »

Sauf en ce qui regarde la situation des noyaux, la description de Henle est parfaitement exacte, et, n'était cette légère erreur, il n'y aurait rien à y changer encore aujourd'hui. C'est pour cela, et aussi dans le but d'éviter toute confusion, que j'ai désigné cette membrane qui enveloppe les petits nerfs sous le nom de gaine de Henle[2].

L'étude de la gaine de Henle est relativement facile. On peut la reconnaître sur les petits troncs nerveux isolés dans l'eau par dissociation. Mais, pour l'observer dans sa plus grande simplicité et déterminer en même temps le siège des noyaux qu'elle possède, les nerfs musculaires de la grenouille, et surtout ceux du lézard, présentent de grands avantages; chez ce dernier animal il convient de choisir les muscles les plus longs, ceux de la cuisse, parce qu'ils contiennent des nerfs grêles qui ont un assez grand parcours et qui dès lors peuvent être facilement isolés.

1. *Henle*, Anatomie générale (*Encyclopédie anatomique*, trad. française, 1843, t. VII, p. 164).

2. Voy. *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. I, p. 159.

L'animal étant sacrifié et les musles en question étant mis à nu, on y fait une injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Dès que, sous l'influence de ce réactif, les muscles ont pris une teinte brunâtre, ils sont enlevés, placés dans l'eau et dissociés avec des pinces et des ciseaux. A un grossissement faible, avec lequel il est possible d'examiner les parties dissociées sans les recouvrir d'une lamelle, on juge des effets de la dissociation et on la poursuit jusqu'à ce que l'on ait isolé quelques-uns des nerfs les plus grêles. Cette opération n'est pas difficile. Pour achever la préparation, il faut faire agir une solution de picrocarminate à 1 pour 100 pendant vingt-quatre heures et la remplacer ensuite par la glycérine. On pourra également colorer par la purpurine et conserver les tissus dans la résine dammare.

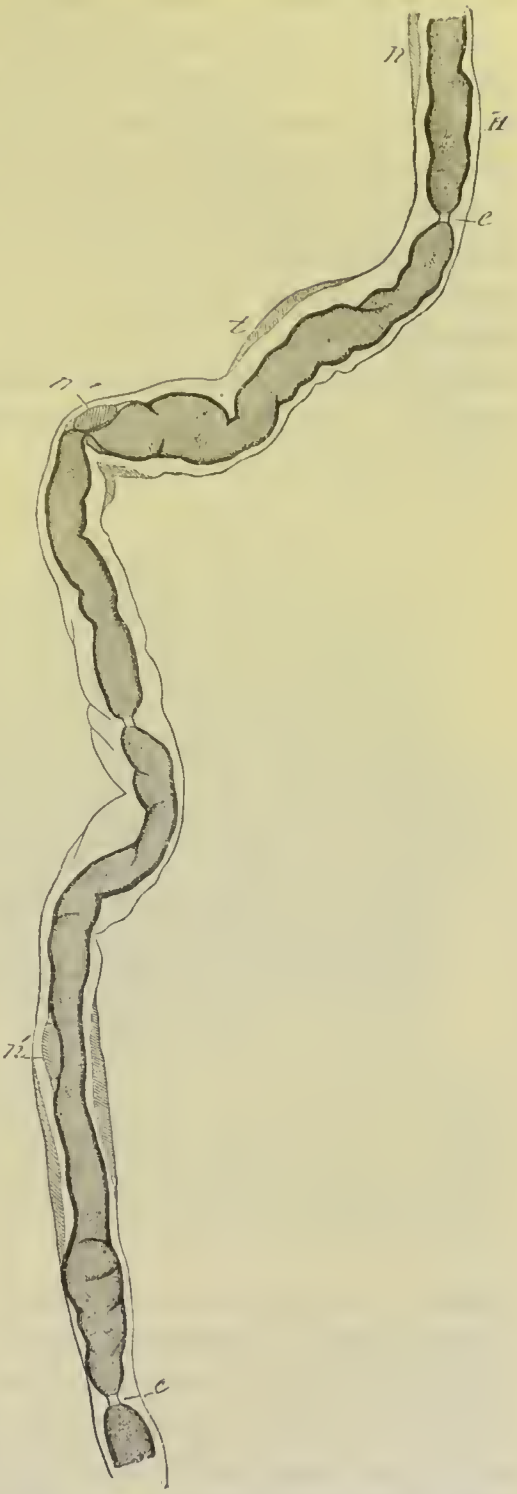


Fig. 265. — Tube nerveux cheminant isolé dans les muscles de la cuisse du lézard gris. Injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100; dissociation dans l'eau; coloration à la purpurine; conservation dans la résine dammare. — H, gaine de Henle; *n*, noyaux de la gaine de Henle; *e*, étranglements annulaires; *n'*, noyaux des segments interannulaires. — 600 diam.

Dans ces préparations, en suivant vers sa terminaison un nerf composé de plusieurs tubes nerveux, on le verra se diviser et se subdiviser; la gaine de Henle qui l'entoure se divise et se subdivise également, de manière à former une enveloppe distincte à chacun des petits nerfs qui se dégagent du tronc principal, et, dans ces divisions successives, elle se comporte comme une arborisation vasculaire. Dans leurs dernières ramifications, les nerfs musculaires arrivant à n'être plus formés que par un seul tube nerveux à myéline, chacun de ces tubes, outre sa gaine de Schwann, dont l'existence est démontrée par les étranglements annulaires, les segments interannulaires et les noyaux de ces segments, possède encore une seconde membrane (voy. fig. 265). Cette membrane, plus ou moins distante du tube qu'elle enveloppe, ne suit pas sa forme au niveau des étranglements annulaires, et sur sa face pro-

fonde, elle présente des noyaux dont la position exacte peut seulement être déterminée lorsqu'ils sont de profil.

L'espace compris entre la membrane de Henle et la membrane de Schwann est occupé par le plasma nutritif ou lymphatique, qui baigne ainsi l'élément nerveux et peut en pénétrer la partie essentielle, le cylindre-axe, au niveau de chaque étranglement annulaire. C'est à ce niveau, en effet, que se produisent les échanges nutritifs nécessaires à la fonction du nerf, ainsi qu'il ressort des observations qui ont été faites à propos de l'action du picrocarminate et du nitrate d'argent sur les tubes nerveux. Nous reviendrons encore sur ce point lorsque, à la fin de ce chapitre, nous présenterons un résumé des connaissances acquises sur l'histologie et la physiologie des nerfs.

Les noyaux qui doublent la membrane de Henle appartiennent à des cellules endothéliales qui tapissent sa face profonde. Pour le démontrer il faut avoir recours au nitrate d'argent. En traitant les nerfs thoraciques du lapin, du rat ou de la souris suivant la méthode qui a été indiquée page 554, on obtient des préparations dans lesquelles l'endothélium de la gaine de Henle est rendu évident [1]. Les cellules qui constituent cet endothélium sont grandes, extrêmement minces et limitées par des lignes d'imprégnation fines et peu sinueuses (fig. 266).



Fig. 266. — Nerf thoracique de la souris, formé d'un seul faisceau nerveux, imprégné d'argent et conservé dans la glycérine. — 200 diam.

Au-dessous de l'endothélium, si la solution de nitrate d'argent a pénétré au delà, on distingue, à la surface du nerf et quelquefois aussi dans son épaisseur, les barres transversales ou les petites croix latines qui indiquent les étranglements annulaires.

L'existence de la gaine lamelleuse autour des faisceaux nerveux d'un diamètre notable peut être reconnue dans les coupes transversales des nerfs préalablement durcis à l'aide de l'une des méthodes indiquées page 564.

Dans ces coupes, lorsqu'elles ont été colorées au carmin, chaque faisceau nerveux paraît entouré d'un anneau fortement coloré en rouge et formé par des lames superposées, d'autant plus nettes qu'elles sont plus profondes [2]. Cette coloration rouge, que prend le tissu qui compose la gaine lamelleuse des nerfs sous l'influence du carmin, est encore bien mieux marquée si l'on assure l'élection de cette substance en faisant usage des procédés suivants :

1. C'est à l'aide d'un procédé analogue que Wiensky, sous la direction de Rudnew (voy. *Cannstatt's Jahresbericht*, 1868, t. I, p. 25), a déterminé l'existence d'un endothélium à la surface des petits troncs nerveux.

2. La structure de la gaine lamelleuse des nerfs a été décrite pour la première fois dans le travail que j'ai publié dans les *Archives de physiologie*, en 1872. Pour l'historique complet de cette question, voyez *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. I, p. 160.

Le sciatique ou tout autre nerf aussi volumineux d'un mammifère est fixé sur une lame de liège et soumis à la dessiccation. On y pratique alors, en suivant le procédé qui a été indiqué pour les artères (voy. p. 428), des coupes transversales qui sont placées pendant un instant dans l'eau, colorées par le picrocarminate et montées en préparation dans la glycérine additionnée d'acide formique. Dans ce dernier réactif, le tissu conjonctif périfasciculaire, qui était légèrement teint en rose par le carmin, se décolore d'une manière à peu près complète, tandis que la gaine lamelleuse y conserve une coloration rouge franche.

Des coupes longitudinales des nerfs faites à l'aide du même procédé montrent, au niveau des bords de chaque faisceau nerveux, un ruban fortement coloré qui correspond à la gaine lamelleuse, tandis que le tissu conjonctif voisin est à peu près incolore[1].

La dessiccation est un procédé de durcissement suffisant lorsque l'on se propose de montrer l'élection du carmin pour la gaine lamelleuse; mais les préparations qu'elle fournit sont toujours imparfaites, parce que la myéline, desséchée d'abord, puis soumise à l'action de l'eau, se gonfle dans ce liquide, s'échappe des tubes nerveux et forme des boules, des filaments et des granulations qui vont se répandre sur les parties voisines et en altèrent l'image.

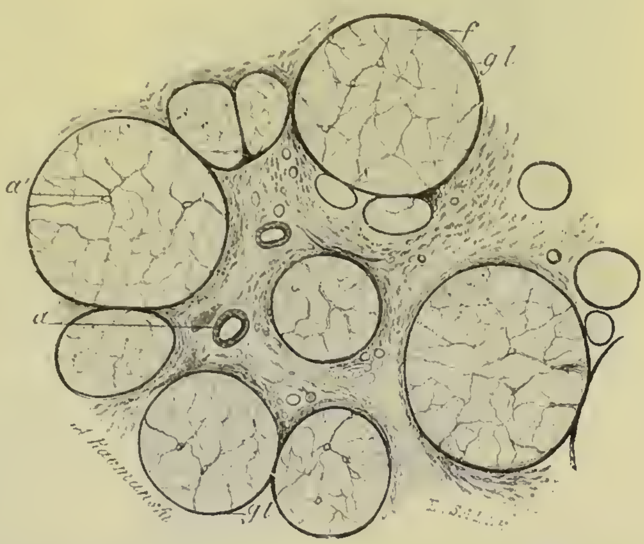


Fig. 267. — Nerf sciatique de l'homme adulte. Coupe transversale faite après durcissement du nerf par une solution d'acide chromique à 2 pour 1000. Coloration au carmin. — *gl*, gaine lamelleuse des faisceaux nerveux: *a*, artère dans le tissu conjonctif périfasciculaire: *a'*, artériole dans le tissu conjonctif intrafasciculaire. — 20 diam.

Cet inconvénient est évité en partie si, au lieu de la dessiccation, on emploie, pour déterminer le durcissement du nerf, l'action successive d'une solution saturée d'acide picrique, de la gomme et de l'alcool. Les coupes placées dans l'eau jusqu'à ce que la gomme qui les imprégnait soit dissoute, sont colorées au picrocarminate, lavées et montées dans la glycérine additionnée d'acide formique.

Dans les coupes transversales de nerfs, faites par l'un des procédés qui viennent d'être indiqués, il n'est pas facile de bien distinguer les unes des autres les lamelles qui entrent dans la composition de la gaine d'un faisceau

1. Lorsque ces coupes sont parallèles à l'axe des faisceaux nerveux et qu'elles sont suffisamment minces, les fibres à myéline laissent voir d'une manière bien nette leurs étranglements annulaires. Je signale ce fait en passant, pour montrer qu'à l'aide d'une méthode simple, pratiquée depuis longtemps dans les recherches histologiques, on reconnaît une disposition dont la découverte cependant n'a pu être faite qu'à l'aide des méthodes perfectionnées de la technique actuelle.

nerveux. Pour le faire, il faut avoir recours à d'autres méthodes, parmi lesquelles il convient de choisir d'abord les suivantes :

Le sciatique du chien, du lapin ou de tout autre mammifère, étant mis à découvert et laissé en place, ou bien étant enlevé et maintenu en extension sur une lame de liège au moyen d'épingles fixées à ses extrémités, on injecte dans le tissu conjonctif périfasciculaire du nerf, avec une seringue hypodermique muni d'une canule en or, un mélange de gélatine ramollie dans l'eau distillée et fondue au bain-marie, 2 parties, solution de nitrate d'argent à 1 pour 100, 1 partie. Il faut avoir soin d'enfoncer la canule obliquement, de façon à en conduire la pointe au voisinage d'un gros faisceau nerveux. Lorsque la masse de gélatine est prise par le refroidissement, le nerf est enlevé, plongé dans l'alcool, et, vingt-quatre heures après, il est devenu suffisamment dur pour que l'on puisse y pratiquer des coupes transversales. Ces coupes sont placées d'abord dans l'eau et ensuite montées dans la glycérine.

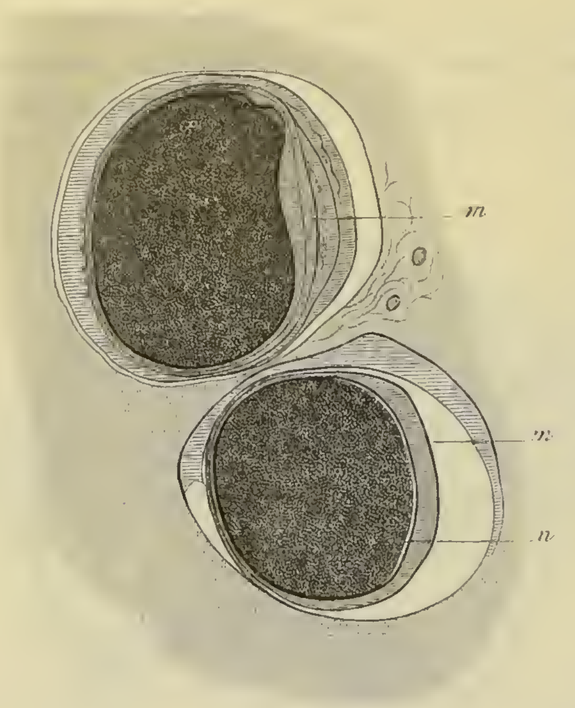


Fig. 268. — Coupe transversale du nerf sciatique du lapin. — *n*, faisceaux nerveux légèrement déformés par pression ; *m*, lamelle de la gaine lamelleuse. — 80 diam.

Dans le nerf sciatique du chien, la gélatine ne se répand pas d'ordinaire entre les lamelles des gaines, mais le nitrate d'argent les pénètre et indique leurs limites par autant de lignes noires, de sorte que ces lamelles, devenues bien distinctes les unes des autres, peuvent être exactement comptées. Il y en a dix, douze et jusqu'à quinze autour du gros faisceau nerveux du sciatique à la partie moyenne et supérieure de la cuisse.

Chez le lapin, il arrive souvent que la masse de gélatine pénètre entre les différentes lames qui composent la gaine des faisceaux nerveux et les écarte les unes des autres. On peut reconnaître alors que ces lames ne représentent pas autant de tubes simplement emboîtés les uns dans les autres, mais qu'elles se divisent, s'infléchissent, pour s'anastomoser entre elles, et former un système continu.

Ce système, que j'ai désigné sous le nom de *système de tentes*, peut être également observé dans la gaine lamelleuse du gros faisceau du sciatique du chien. Pour cela, les coupes doivent être faites suivant l'axe du nerf ; le segment de la gaine compris dans la coupe forme une sorte de ruban coloré en noir par le nitrate d'argent et constitué par des feuillets que l'on peut écarter les uns des autres, mais non d'une manière complète. Ils sont reliés

entre eux par des lamelles obliques, dont les insertions et la distribution paraissent soumises à une très grande irrégularité.

Ces différentes lames sont recouvertes de cellules endothéliales, dont on peut en quelques points distinguer nettement les limites, grâce à l'imprégnation d'argent.

Il convient d'ajouter que, sur les petits faisceaux nerveux qui ont été soumis à l'action du nitrate d'argent et qui sont examinés à plat dans la glycérine, on aperçoit des traits noirs minces, superposés, en nombre plus ou moins considérable suivant l'épaisseur du faisceau nerveux, et qui correspondent aux lignes intercellulaires des couches endothéliales des différentes lames connectives de la gaine lamelleuse

On peut encore bien distinguer les lamelles de la gaine lamelleuse et même les compter dans les coupes transversales de nerfs, faites après l'action successives de l'acide osmique, de la gomme et de l'alcool (voy. p. 567). Après que la gomme qu'elles renferment a été dissoute par un séjour convenable dans l'eau distillée, ces coupes sont placées pendant vingt-quatre heures dans une solution de purpurine (voy. p. 95).

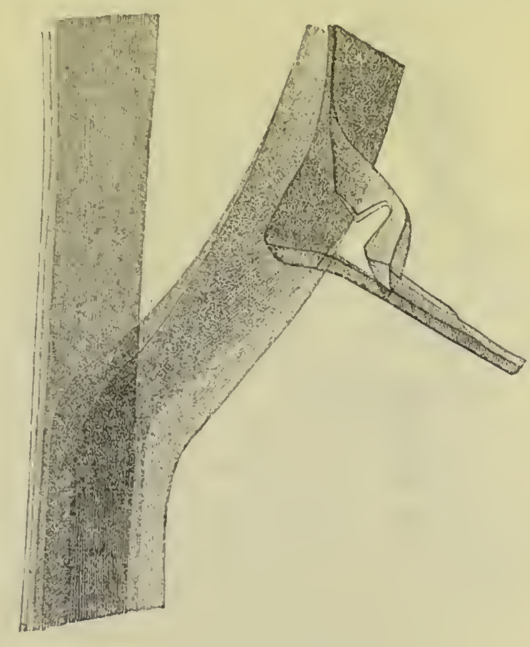


Fig. 269. — Lamelles du gros faisceau du nerf sciatique du chien, dissociées sur une coupe longitudinale faite après injection interstitielle de gélatine additionnée de nitrate d'argent et durcissement par l'alcool. — 50 diam.

On obtient de fort belles préparations de la gaine lamelleuse des nerfs collatéraux des doigts de l'homme à l'aide d'une méthode analogue, mais qui ne peut guère être appliquée à d'autres organes. Par une des artères collatérales et sous une forte pression, on injecte une solution d'acide osmique à 1 pour 100, toute voie de retour étant fermée. Une heure après, l'acide osmique ayant complètement agi, on enlève les phalanges par dissection pour ne conserver que les parties molles, et l'on traite ces dernières successivement par l'alcool, la gomme et l'alcool. Les coupes que l'on en fait ensuite sont colorées par la purpurine. A côté d'autres détails intéressants relatifs à l'épiderme, au tissu conjonctif, aux glandes sudoripares et aux corpuscules de Pacini, elles montrent les nerfs collatéraux et leurs gaines, dont les différentes lamelles incolores sont séparées les unes des autres par des noyaux colorés en rouge pâle.

Dans les coupes transversales de nerfs isolés durcis par l'acide osmique et colorés par la purpurine, la gaine lamelleuse donne des images analogues. Elle sont cependant moins régulières, parce que, sous l'influence du traitement qu'on lui a fait subir, il se produit toujours dans le nerf complètement séparé un retrait assez considérable.

La structure élémentaire des lamelles qui composent la gaine des faisceaux nerveux peut être déterminée à l'aide de plusieurs procédés dont les résultats s'ajoutent et se complètent : les imprégnations d'argent, ainsi qu'il ressort de ce qui a été dit plus haut; des dissociations ménagées, après que le nerf a macéré dans des solutions de bichromate d'ammoniaque, d'acide chromique ou d'acide osmique.

Lorsque l'on se propose de colorer, soit par le picrocarminate, soit par l'hématoxyline, les lamelles isolées, il faut donner la préférence au bichromate d'ammoniaque en solution à 2 pour 100. Après que le nerf a séjourné pendant plusieurs semaines dans cette solution, on en prend un tronçon de deux centimètres de longueur environ. En opérant sur lui avec des pinces, il est facile d'en séparer les faisceaux nerveux qui les composent. Il convient d'agir maintenant sur le plus gros de ces faisceaux. Outre la gaine lamelleuse, il reste autour de lui une certaine quantité de tissu conjonctif périfasciculaire; il faut l'en débarrasser aussi complètement que possible, en le maintenant dans l'eau avec une pince, tandis qu'avec une seconde pince on arrache les fibres connectives. Lorsque la gaine lamelleuse est complètement à nu, elle est fendue suivant sa longueur avec des ciseaux fins, et les tubes nerveux en sont extraits. Elle se présente alors comme une membrane mince, lisse et repliée en forme de tuile. Cette membrane est trop complexe encore et beaucoup trop épaisse pour être examinée à plat. Il est indispensable de la diviser en lambeaux plus minces, correspondant à une seule ou à un petit nombre de ses lames constitutives, ce à quoi on arrive au moyen de la pince et des aiguilles en y mettant de l'adresse et de la patience. Ces lambeaux sont colorés par l'hématoxyline, lavés et montés en préparation dans la glycérine.

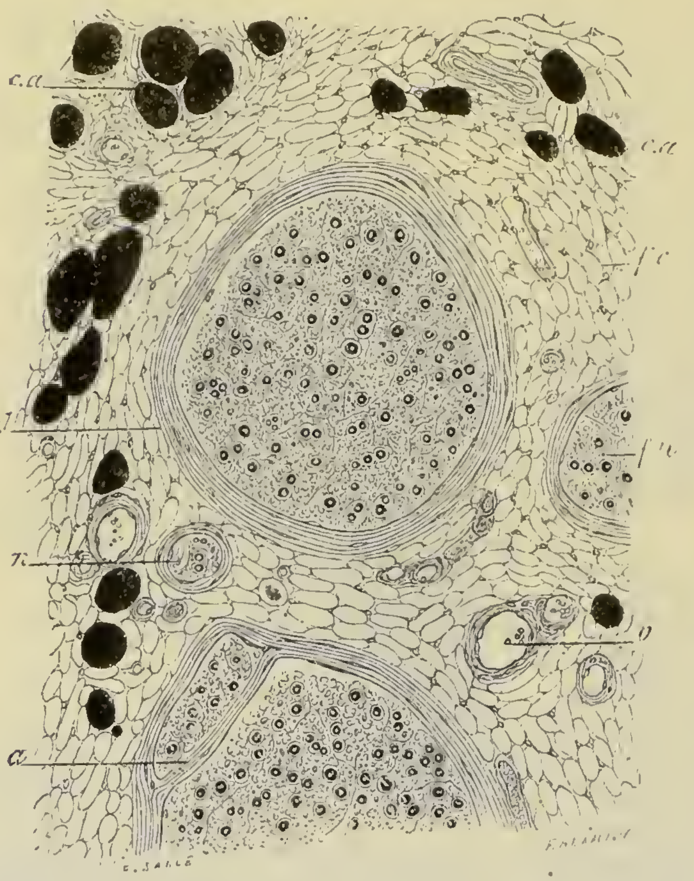


Fig. 270. — Nerf collatéral des doigts de la main. Coupe transversale après injection vasculaire forcée d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et durcissement par l'action successive de la gomme et de l'alcool. Coloration par la purpurine; conservation de la préparation dans la glycérine. — *f.n*, faisceaux nerveux; *g.l*, gaine lamelleuse; *a*, cloison de division d'un faisceau nerveux; *n*, un faisceau nerveux très grêle; *v*, vaisseau sanguin; *fc*, tissu conjonctif; *c.a*, cellules adipeuses. — 150 diam.

Dans ces préparations, on reconnaîtra que les lames qui entrent dans la composition de la gaine des nerfs n'ont pas la même structure suivant qu'elles sont superficielles ou profondes. Les superficielles sont constituées par de gros faisceaux de tissu conjonctif placés les uns à côté des autres ou entre-croisés, mais toujours aplatis, et formant par leur réunion une membrane feutrée dans laquelle sont ménagées des ouvertures arrondies, simples ou réticulées, comme on les observe dans d'autres membranes connectives, par exemple le mésentère de la grenouille, le grand épiploon du lapin, etc. Les lames plus profondes sont également formées de faisceaux de tissu conjonctif, mais ces éléments y deviennent plus minces, et dans les dernières lames ils sont extrêmement grêles.

A ces différents faisceaux se trouvent associés une substance unissante analogue à celle qui existe dans le mésentère du lapin (voy. p. 501) et des éléments élastiques sous forme de grains, de fibres moniliformes, de fibres régulières ou de plaques (voy. p. 521).

Les lames principales de la gaine lamelleuse et les lames accessoires qui les relient, composées aussi d'un stroma connectif, sont, comme toutes les membranes connectives, revêtues d'une couche endothéliale continue.

Cet endothélium, dont l'existence a été démontrée au moyen de l'imprégnation d'argent, se présente, dans les préparations dont nous nous occupons maintenant, sous la forme de grands lambeaux membraneux colorés en violet clair sous l'influence de l'hématoxyline, et munis, à distances à peu près régulières, de noyaux aplatis, colorés en bleu foncé par le même réactif.

Les cellules qui correspondent à chacun de ces noyaux n'ont pas la même épaisseur dans toutes leurs parties. Reposant sur le treillis connectif de lame sous-jacente, elles en prennent l'empreinte et présentent des dépressions qui correspondent aux fibres de ce treillis. Ces dépressions, qui après la coloration par l'hématoxyline s'accusent par un trait moins coloré, sont analogues à celles que l'on observe sur les cellules endothéliales de la choroïde.

La choroïde, dissociée après un séjour prolongé de l'œil dans le liquide de Müller, paraît constituée, comme la gaine lamelleuse des nerfs, par des lames connectives superposées, à la surface desquelles il existe des cellules plates, étoilées chez certaines espèces, irrégulièrement polygonales chez d'autres, le chien par exemple. Ces cellules (fig. 271), qui ne se touchent point et qui dès lors ne peuvent être considérées comme des cellules endothéliales vraies, sont formées de protoplasma, auquel se trouvent mélangées de fines granulations pigmentaires. Au niveau de chacune des fibrilles du stroma qu'elle recouvre, la cellule subit une empreinte qui diminue son épaisseur, de telle sorte qu'en ces points il y a moins de pigment coloré. Il s'ensuit qu'à la lumière transmise la place de chacune des fibres du stroma est marquée par un trait clair.

Si les empreintes des cellules endothéliales de la gaine lamelleuse des nerfs sont moins nettes, moins faciles à voir, elles n'en existent pas moins. On les reconnaîtra plus facilement, on en saisira mieux la signification, après

avoir étudié les lames de la choroïde du chien, et c'est la raison pour laquelle nous en avons donné la description.

La plupart des détails relatifs à la structure des lames de la gaine lamelleuse peuvent également être étudiés sur cette gaine après que le nerf a été durci par l'acide chromique, bien que ce dernier réactif, surtout lorsque l'on se propose de colorer ensuite les éléments par le carmin ou par l'hématoxyline, soit bien inférieur au bichromate d'ammoniaque.

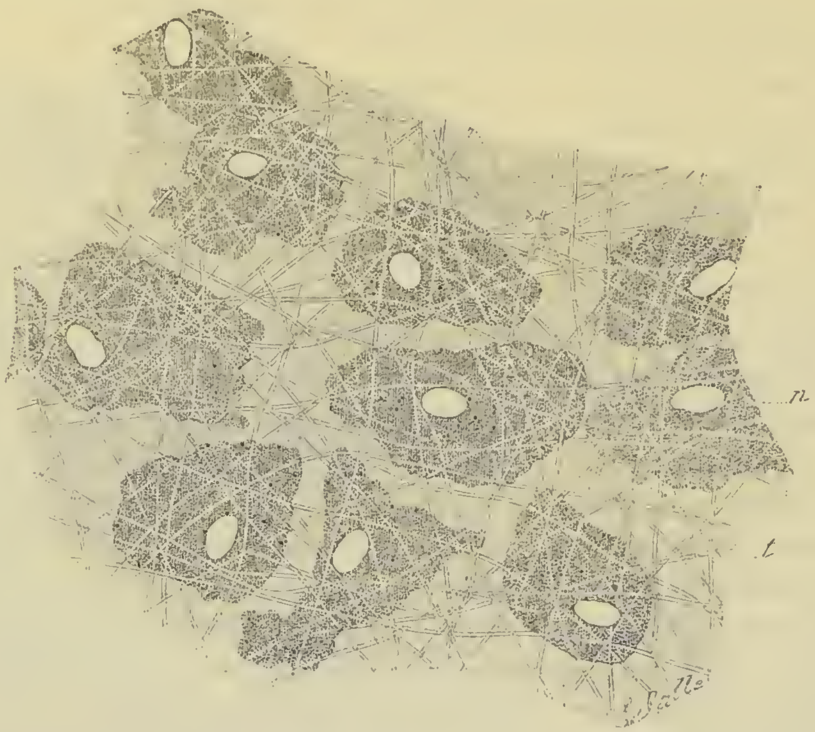


Fig. 271. — Une des lames de la choroïde du chien, isolée après macération de l'œil dans le liquide de Müller; conservation dans la glycérine. — *n*, noyaux des cellules connectives ou endothéliales pigmentées; *f*, fibrilles connectives de la lamelle. — 275 diam.

La dissociation des membranes qui composent la gaine lamelleuse peut être faite également après que le nerf a subi l'action de l'acide osmique (solution à 1 pour 100 ou à 1 pour 200). Il faut alors employer pour colorer ces membranes le sulfate ou l'acétate de rosaniline en solution dans l'eau ou dans l'alcool au tiers. Les préparations obtenues de cette manière sont belles et démonstratives, mais la coloration ne s'y conserve pas[1].

Tissu conjonctif périfasciculaire. — Il n'est pas nécessaire de recourir à des méthodes spéciales pour étudier le tissu conjonctif périfasciculaire. La plupart de celles qui ont été indiquées à propos de la gaine lamelleuse peuvent être employées utilement pour l'examen de ce tissu. Au moyen des injections interstitielles de gélatine additionnée de nitrate d'argent et par l'examen de coupes transversales ou longitudinales de nerfs faites après durcissement par l'acide picrique, la gomme et l'alcool, l'acide osmique, l'acide chromique, le bichromate d'ammoniaque, etc., on arrive facilement à se convaincre que le tissu conjontif périfasciculaire présente une structure semblable à celle

1. Voyez, pour plus de détails, *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. I, p. 197 et suivantes.

du tissu conjonctif lâche, fasciculé ou diffus, le tissu cellulaire sous-cutané, par exemple. On y rencontre, en effet, des faisceaux connectifs ordinaires de diamètre variable, des fibres élastiques, des cellules connectives plates et munies de prolongements, des cellules adipeuses, et généralement aussi des vaisseaux sanguins et des lymphatiques. Cependant il diffère du tissu conjonctif ordinaire par certains points qu'il importe de noter. Au lieu d'être entre-croisés dans tous les sens, les faisceaux connectifs y ont presque tous une direction longitudinale. Il en est de même du réseau élastique qu'il contient; les mailles de ce réseau sont allongées dans le sens de l'axe du nerf. Les cellules adipeuses elles-mêmes, lorsqu'on les rencontre dans le tissu conjonctif périfasciculaire, sont disposées en petits groupes allongés, ayant leur grand diamètre parallèle à l'axe des cordons nerveux.

Il convient d'ajouter que, si l'on examine le tissu conjonctif périfasciculaire dans les points les plus voisins des faisceaux nerveux, ce tissu, tout en conservant ses caractères généraux, prend peu à peu la forme de lames. Seulement ces lames, au lieu d'être minces et constituées par un treillis de fibres fines comme celles de la gaine lamelleuse, ne sont, comparativement à ces dernières, que des nattes grossières. Elles sont composées de faisceaux relativement épais et écartés les uns des autres.

Chez les plagiostomes, il est des nerfs, les nerfs électriques de la torpille par exemple, dans lesquels le tissu périfasciculaire est entièrement formé de lames qui s'emboîtent et s'anastomosent les unes avec les autres, en laissant entre elles des espaces très extensibles dans lesquels circule le plasma ou la lymphe.

Tissu conjonctif intrafasciculaire. — Le tissu conjonctif qui occupe l'intérieur des faisceaux nerveux se montre sous deux formes : celle des lames connectives et celles des fibres distinctes; ces dernières constituent le tissu conjonctif intrafasciculaire proprement dit. Les lames connectives intrafasciculaires partent des couches les plus internes de la gaine lamelleuse et pénètrent dans l'intérieur du faisceau nerveux pour y conduire des vaisseaux sanguins, ou pour déterminer dans ce faisceau une division qui se complète un peu plus loin de façon à produire deux faisceaux absolument distincts.

Ces lames peuvent être étudiées dans des coupes transversales ou longitudinales de nerfs d'embryons, de jeunes sujets ou d'adultes, faites par l'une des méthodes précédemment indiquées (voy. p. 564).

Le tissu conjonctif intrafasciculaire proprement dit est composé de fibres et de cellules. Les fibres sont des fibres connectives ordinaires, sans mélange de fibres élastiques. Les cellules sont des cellules plates, analogues à celles qui accompagnent généralement les faisceaux dans le tissu conjonctif ordinaire.

Ces éléments peuvent être reconnus dans les préparations faites par dissociation des nerfs qui ont été soumis à l'action des différents réactifs fixateurs précédemment indiqués, par exemple le bichromate d'ammoniaque, l'acide chromique, l'acide osmique, etc.

Dans ces préparations, surtout si elles proviennent des nerfs du chat, du chien et de l'homme adultes, les tubes nerveux, plus ou moins complètement isolés, se montrent entourés d'un certain nombre de fibres très fines, très délicates et dont la direction est parallèle à la leur. Il existe donc à l'état normal autour de chaque tube nerveux un manchon de fibres connectives à direction longitudinale.

A côté de ces fibres ou au milieu d'elles, s'observent des cellules connectives plates, bien évidentes si la préparation a été colorée par le picrocarminate ou l'hématoxyline. Quand elles n'ont pas été complètement isolées, leurs noyaux seuls (voy. *n*, fig. 255) apparaissent nettement.



Fig. 272. — Tissu conjonctif intrafasciculaire du nerf sciatique du chien adulte, dissocié après durcissement du nerf par l'acide chromique à 2 pour 1000. — *f*, faisceaux conjonctifs; *c*, cellules connectives. — 600 diam.

Lorsqu'elles sont détachées des faisceaux qu'elles revêtaient et qu'elles flottent librement dans le liquide additionnel de la préparation, elles paraissent fusiformes si elles sont vues de profil; mais, si elles se présentent de face, on reconnaît qu'elles sont plates, qu'elles ont un contour irrégulier et qu'elles possèdent des prolongements, moins longs cependant et moins nombreux que ceux des cellules analogues du tissu conjonctif sous-cutané. Ainsi isolées, ces cellules ne sont pas planes, mais recourbées comme des tuiles faîtières, gardant ainsi la forme qu'elles avaient dans leur position normale autour des tubes nerveux. Elles présentent des parties plus minces et des parties plus épaisses alternant généralement sous forme de bandes. Leurs noyaux participent quelquefois à ces crêtes et à ces dépressions, qui ne sont autre chose que l'empreinte des colonnes conjonctives et des tubes nerveux sur lesquels elles étaient appliquées.

Pour observer ces derniers détails, il convient de choisir des animaux jeunes, même des nouveau-nés. Le tissu intrafasciculaire, en effet, ne fait

par exception à la loi qui régit le tissu conjonctif en général. Sous l'influence du développement, les cellules prennent de moins en moins d'importance; elles s'amincissent, se dessèchent, et le plus souvent chez l'adulte on ne peut plus y reconnaître les crêtes d'empreintes qui viennent d'y être signalées.

A côté des fibres et des cellules connectives, on observe souvent des cellules lymphatiques. Ces derniers éléments se rencontrent, comme on le sait, dans le tissu conjonctif diffus des différentes régions du corps, dont le tissu intrafasciculaire ne constitue, du reste, qu'une simple variété.

VAISSEAUX SANGUINS DES NERFS

Les nerfs les plus fins ne possèdent pas de vaisseaux propres; ils empruntent les matériaux de leur nutrition au plasma qui les baigne et qui leur est fourni par les capillaires situés dans leur voisinage. Mais, dès qu'ils ont un calibre notable, les faisceaux nerveux, isolés ou groupés pour constituer des nerfs, possèdent des vaisseaux sanguins qui, après s'être engagés dans leur gaine lamelleuse, les pénètrent et se distribuent dans leur intérieur.

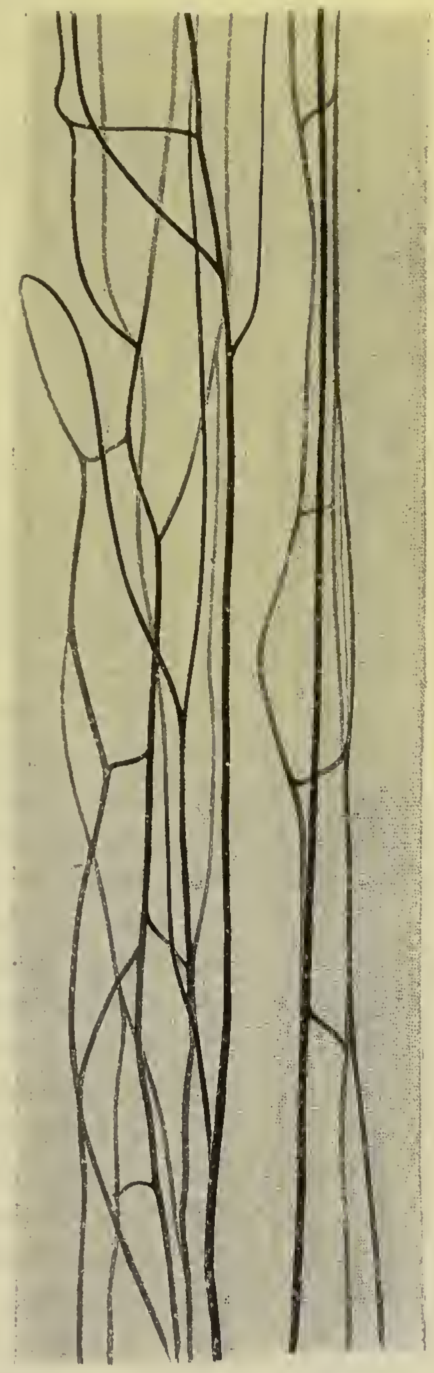


Fig. 275. — Nerf sciatique d'une grenouille verte, dont les vaisseaux sanguins ont été injectés avec une masse de carmin à la gélatine. Le nerf tout entier a été ensuite plongé dans l'alcool absolu, éclairci par l'essence de girofle et monté dans le baume du Canada. La portion du nerf, qui a été recueillie, est constituée par un seul faisceau, et tous les vaisseaux sanguins qui y sont figurés sont contenus dans l'intérieur de ce faisceau, en dedans de la gaine lamelleuse. — 80 diam.

L'existence de vaisseaux sanguins (artères, veines et capillaires) entre les tubes nerveux qui composent les gros faisceaux des nerfs peut déjà être reconnue dans les coupes transversales des nerfs faites après n'importe laquelle des méthodes indiquées page 564. Les artérioles et les veinules sont comprises dans des lames intrafasciculaires, tandis que les vaisseaux capillaires sont en rapport direct avec les tubes nerveux, ou en sont seulement séparés par quelques fibr.s de tissu conjonctif. On observe, dans le tissu conjonctif périfasciculaire, un certain nombre de vaisseaux de calibre relativement considérable, coupés en travers et dont la direction générale est par conséquent

parallèle à l'axe du nerf (voy. fig. 267). Mais, pour bien voir tous ces vaisseaux et en reconnaître la distribution, il est nécessaire d'étudier des préparations de nerfs dont le système vasculaire sanguin a été convenablement injecté.

Ces nerfs peuvent être pris chez un animal dont tout le système vasculaire a été rempli d'une masse à la gélatine colorée par le carmin ou le bleu de Prusse, ou chez lequel on a pratiqué une injection partielle. Pour les détails relatifs à la préparation de la masse et à l'opération, voyez pages 100 et suivantes.

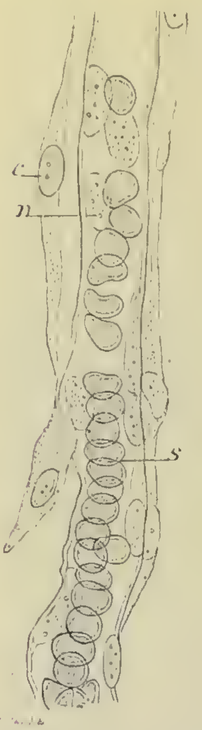


Fig. 274. — Vaisseau capillaire intrafasciculaire du nerf sciatique du chien adulte, isolé après durcissement du nerf dans l'acide chromique à 2 pour 1000. — *s*, globules rouges du sang contenus dans l'intérieur du capillaire; *n*, noyaux de la paroi du capillaire; *c*, cellule connective appliquée sur la surface externe du capillaire. — 600 d.

Si le nerf sur lequel doit porter l'examen est assez grêle pour qu'on puisse le soumettre tout entier à l'observation microscopique, il est traité successivement par l'alcool ordinaire et l'alcool absolu, et monté dans le baume du Canada ou la résine dammare, après avoir été éclairci par l'essence de girofle ou l'essence de térébenthine.

Le sciatique de la grenouille, la plupart des nerfs du rat, le saphène péronier du cochon d'Inde ou du lapin, conviennent tout spécialement pour ces préparations.

Le sciatique de la grenouille est constitué, comme on le sait, par un seul faisceau nerveux; le tissu conjonctif périfasciculaire y fait à peu près complètement défaut et les vaisseaux sanguins que l'on y observe sont presque tous intrafasciculaires. Le réseau intrafasciculaire du sciatique de la grenouille possède des mailles très allongées suivant l'axe du faisceau nerveux. Il y a lieu de considérer à ce réseau des branches longitudinales qui sont à peu près parallèles entre elles, et des branches transversales qui leur sont perpendiculaires ou plus ou moins obliques. Souvent un des vaisseaux capillaires du réseau, s'engageant entre les différents tubes nerveux, parcourt au milieu d'eux un certain trajet et forme une anse pour rejoindre le réseau commun dans un point plus ou moins éloigné de son lieu d'origine (voy. fig. 275).

Dans les nerfs des mammifères, observés en entier et suivant leur longueur, après que leurs vaisseaux ont été injectés et qu'on les a rendus transparents par l'essence de térébenthine ou de girofle, à l'image du réseau intrafasciculaire proprement dit vient s'ajouter celle d'un réseau artériel, capillaire et veineux situé dans le tissu conjonctif périfasciculaire. Pour distinguer ces deux réseaux l'un de l'autre il faut une très grande attention, et encore peut-on rester dans le doute sur la situation de tel ou tel rameau vasculaire. Aussi, pour éviter toute confusion à ce sujet, convient-il d'avoir recours à l'examen de coupes longitudinales et transversales.

Le nerf sera durci dans l'alcool si l'injection a été faite avec une masse colorée au carmin, dans l'alcool, l'acide chromique ou les bichromates si l'on a employé une masse au bleu de Prusse.

Dans les coupes longitudinales des gros faisceaux nerveux (sciatique du chien, du lapin, du cochon d'Inde, etc.), on peut reconnaître alors l'existence d'un réseau capillaire analogue à celui du sciatique de la grenouille. Dans les coupes transversales des mêmes faisceaux, la plupart des capillaires sont coupés en travers; si la coupe est épaisse et bien éclaircie, on peut les suivre dans la profondeur (voy. fig. 275) et voir en certains points des divisions de vaisseaux en forme de fourches.

La structure des artérioles, des veinules et des capillaires, qui cheminent dans l'épaisseur des faisceaux nerveux, ne présente rien de spécial. Les branches longitudinales du réseau capillaire, ayant une longueur assez grande, on peut les isoler facilement en dissociant un nerf dont les éléments sont fixés par l'acide osmique, l'acide chromique ou les bichromates.

Si la dissociation n'a pas été poussée trop loin, on observe à la surface des capillaires des cellules connectives aplaties qui leur forment un revêtement incomplet (voy. fig. 274 et p. 449 et 450).

VAISSEAUX LYMPHATIQUES DES NERFS

On étudie les vaisseaux lymphatiques des nerfs en les injectant par piqûre avec du bleu de Prusse dissous dans l'eau ou avec une masse de bleu à la gélatine.

Après avoir découvert le nerf sciatique d'un chien que l'on vient de sacrifier, en ménageant le tissu conjonctif qui l'entoure, on réussit parfois d'emblée à injecter quelques-uns des vaisseaux lymphatiques de ce nerf, en faisant pénétrer la pointe de la canule entre les faisceaux qui le composent; mais le plus souvent il se produit d'abord une diffusion de la masse colorée qui, en se répandant dans le tissu conjonctif, s'étend progressivement sur une certaine longueur du nerf, et c'est plus tard seulement que l'on voit des vaisseaux lymphatiques se remplir du liquide coloré. Ces vaisseaux ont la forme caractéristique des lymphatiques. Les uns remontent le long du nerf, pénètrent avec lui dans la cavité pelvienne et vont se rendre au ganglion lombaire; les autres s'engagent dans les interstices musculaires voisins.

Si, au lieu de faire pénétrer la canule de la seringue dans le tissu conjonctif périfasciculaire, on l'introduit obliquement dans l'intérieur d'un gros faisceau nerveux, la masse colorée se répand dans le faisceau et en suit le trajet sur une longueur plus ou moins considérable. L'injection se fait dans ce faisceau comme s'il formait un canal analogue à une branche vasculaire ou à un conduit glandulaire[1], mais en réalité la masse injectée s'est simple-

1. En 1824, Bogros (Mémoire sur la structure des nerfs, in *Répertoire d'anatomie et de physiologie*, t. IV, 1827, p. 65) réussit à injecter les nerfs avec du mercure, comme on le faisait alors pour les vaisseaux lymphatiques. Il en conclut que dans l'intérieur de chaque faisceau nerveux il existe un canal préformé analogue à un canal vasculaire. Plus tard

ment logée dans le tissu conjonctif intrafasciculaire, entre les éléments nerveux. Pour s'en assurer, il suffit de faire des coupes transversales du nerf injecté. On le met dans l'alcool et vingt-quatre heures après il y a pris une consistance convenable. Les coupes seront montées dans le baume du Canada, en suivant le procédé classique. Pour obtenir de ces préparations des renseignements complets, il est bon que les vaisseaux sanguins du nerf aient été préalablement injectés au moyen d'une masse de carmin à la gélatine.

On constate alors que la masse bleue s'est répandue tout autour des tubes nerveux et des capillaires (fig. 275), remplissant ainsi l'espace plasmatique ou lymphatique qui est compris entre ces différents éléments; quelquefois elle s'est engagée le long des lames intrafasciculaires et les a suivies pour atteindre la gaine lamelleuse; mais le plus souvent elle est restée limitée à la partie centrale du faisceau nerveux.



Fig. 275. — Gros faisceau nerveux du sciatique du rat. Les vaisseaux sanguins ont été injectés avec une masse au carmin additionné de gélatine. Une injection interstitielle de bleu de Prusse additionné de gélatine a été faite dans le tissu conjonctif intrafasciculaire. Le nerf maintenu en extension physiologique a été plongé dans l'alcool absolu. Coupe transversale après durcissement. — *gl*, gaine lamelleuse; *c*, capillaire sanguin; *tn*, tube nerveux; *ca*, cylindre-axe; *a*, interstices remplis de la masse de bleu de Prusse. — 80 diam.

Il y a lieu de se demander comment il se fait qu'une masse colorée puisse filer dans l'intérieur d'un faisceau nerveux et y cheminer dans une grande longueur, sans être retenue latéralement par une membrane; mais, si l'on considère que, en pénétrant entre les tubes nerveux, la masse les écarte, on comprendra aisément que ces tubes, pressés les uns sur les autres et maintenus à la périphérie par la gaine lamelleuse, forment une barrière latérale, tandis qu'en avant le liquide trouve une issue facile.

Cruveilhier, ayant vainement cherché ce canal, pensa que, dans l'injection centrale d'un nerf, on n'injecte ni le névrilemme, ni la substance nerveuse, ni les vaisseaux, mais une gaine propre à chaque filet nerveux (*Anatomie descriptive*, 3e édit., t. IV, p. 461). J'ai démontré depuis (*Recherches sur l'anatomie et la physiologie des nerfs*, in *Archives de physiologie*, 1872, p. 459) que la masse d'injection qui pénètre dans un faisceau nerveux se répand entre les différents tubes qui le composent et peut filer entre eux dans une très grande longueur sans atteindre la gaine lamelleuse qui les entoure, et que par conséquent l'injection des filaments nerveux n'implique pas l'existence d'un canal limité dans leur intérieur. — Voyez pour les autres détails historiques, *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. I, p. 181 et suiv.

Quand bien même la gaine lamelleuse serait constituée par un lacis perméable, la masse injectée n'en suivrait pas moins la direction du faisceau nerveux, si toutefois la résistance de cette gaine était suffisante pour empêcher l'écartement des tubes nerveux qu'elle renferme.

Si, chez un chien, après avoir dénudé le nerf sciatique, on pratique dans le gros faisceau de ce nerf une injection interstitielle de bleu de Prusse, la masse suit d'abord le trajet du nerf; mais bientôt elle gagne la surface du faisceau nerveux, traverse sa gaine lamelleuse et diffuse dans le tissu conjonctif périfasciculaire. Quelquefois un ou plusieurs des lymphatiques qui prennent naissance dans ce tissu s'injectent comme si l'on y avait fait pénétrer directement la pointe de la canule.

Il suit de là que l'espace connectif intrafasciculaire, limité par la gaine lamelleuse, les tubes nerveux et les vaisseaux qu'elle renferme, se poursuit entre les lames de cette gaine pour communiquer avec les interstices ou les mailles du tissu connectif périfasciculaire, et que c'est dans ces mailles que les lymphatiques du nerf prennent naissance.

En résumé, il n'y a pas de vaisseaux lymphatiques distincts dans l'épaisseur des faisceaux nerveux ni dans la gaine qui les entoure. Ces vaisseaux partent du tissu conjonctif périfasciculaire.

RÉSUMÉ DES NOTIONS ACQUISES SUR LES NERFS

Nous devons maintenant résumer les notions les plus essentielles que nous avons acquises dans cette étude de la structure des nerfs. Certaines de ces notions doivent même être complétées pour nous permettre d'arriver à quelques conclusions importantes relatives à la morphologie des fibres nerveuses et à leur nutrition.

Dans les nerfs des vertébrés nous avons reconnu l'existence de deux espèces de fibres nerveuses : les tubes nerveux et les fibres de Remak.

Les tubes nerveux ont tous la même structure et constituent une seule espèce histologique ; il n'y a pas lieu de les diviser, avec certains auteurs, en tubes nerveux minces et tubes nerveux larges, car entre les tubes les plus grêles et ceux dont le diamètre est le plus considérable on observe tous les intermédiaires.

Les tubes nerveux sont caractérisés non seulement par leur gaine de myéline, mais encore par leurs étranglements annulaires. Ces étranglements, chez un même animal et dans les tubes nerveux de même diamètre, sont à peu près à égale distance les uns des autres. Ils limitent par conséquent des segments à peu près de la même longueur. Il est cependant des exceptions à cette règle : c'est ainsi que chez la torpille[1] les nerfs électriques sont formés de tubes nerveux dont les segments interannulaires sont beaucoup plus courts que ceux des tubes nerveux de même diamètre provenant des nerfs mixtes. Il est probable qu'une étude attentive du système nerveux

1. *Des étranglements annulaires et des segments interannulaires chez les raies et les torpilles.* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 4 nov. 1872, t. LXXV, p. 1129).

périphérique dans la série animale conduira à des découvertes analogues, et peut-être arrive-t-on alors à reconnaître que les segments interannulaires des tubes nerveux sont d'autant plus courts que ces tubes ont des fonctions plus actives.

En règle générale, il y a un rapport entre le diamètre des tubes nerveux et la longueur des segments qui les composent; ce rapport est direct, en ce sens que les segments interannulaires sont d'autant plus courts que les tubes nerveux sont moins larges. C'est ainsi que les plus gros tubes nerveux de l'homme, du chien, du lapin, dont le diamètre est 15 μ, ont des segments d'une longueur de $1^{mm},5$ en moyenne, tandis que, chez des raies de grande taille, dont les plus gros tubes nerveux ont le diamètre de 50 μ, les segments interannulaires ont 7 millimètres de longueur.

Si nous comparons maintenant les segments interannulaires de l'adulte et du nouveau-né, nous constaterons encore un fait dont il est à peine nécessaire de faire ressortir l'importance : chez le chien nouveau-né, par exemple, les segments interannulaires des plus gros tubes nerveux du sciatique ont une longueur de un tiers de millimètre, tandis que chez l'adulte cette longueur atteint $1^{mm},5$. L'accroissement des tubes nerveux semble donc se faire par une élongation progressive de leurs segments interannulaires; et, ainsi que je l'ai indiqué il y a longtemps déjà, c'est là un fait d'accroissement des plus nets et des plus démonstratifs.

Pour en bien saisir toute la signification, il importe d'avoir acquis une notion morphologique exacte des segments interannulaires. Ces segments paraissent être des éléments cellulaires distincts, car ils possèdent un seul noyau, placé à peu près à égale distance de leurs deux extrémités.

Autour du noyau, on reconnaît, à l'aide de plusieurs des méthodes qui ont été indiquées, l'existence d'une lame de protoplasma. Cette lame s'étend de tous les côtés au delà des limites du noyau : elle double la membrane de Schwann dans toute l'étendue du segment. Au niveau de chacun des étranglements qui terminent ce dernier, elle se replie pour concourir à la formation du renflement biconique, passe sur le cylindre-axe et lui forme une enveloppe distincte. Cette enveloppe, dont Mauthner avait reconnu l'existence, est aujourd'hui nettement interprétée; elle correspond à la portion de la lame protoplasmique du segment interannulaire réfléchie sur le cylindre-axe

Les choses ainsi comprises, la lame protoplasmique d'un segment interannulaire circonscrit une cavité close, et le cylindre-axe, bien qu'il soit libre dans cette cavité, y est simplement contenu, à la manière d'un organe, dans un sac séreux, comme le sont, par exemple, les vaisseaux et les nerfs qui traversent le sac lymphatique dorsal de la grenouille.

La myéline qui occupe, dans chaque segment interannulaire, l'espace compris entre la membrane de Schwann et le cylindre-axe, se trouve ainsi complètement enveloppée par la lame protoplasmique de ce segment.

Il y a dès lors, entre le segment interannulaire des tubes nerveux et la cellule adipeuse, une grande analogie morphologique. La cellule adipeuse (voy. p. 281) est constituée par une membrane d'enveloppe anhiste, mince,

résistante, comparable à la membrane de Schwann, au-dessous de laquelle il existe un noyau compris dans une lame protoplasmique qui la double dans toute son étendue et qui est l'analogue du protoplasma du segment interannulaire. Enfin, au centre de la cellule adipeuse se trouve la masse de graisse qui, de même que la myéline du segment, est limitée de toutes parts par le protoplasma. L'étude du développement de la cellule adipeuse nous apprend que cette cellule, qui à l'origine n'a pas de membrane enveloppante, produit d'abord de la graisse dans son intérieur sous forme de granulations distinctes, et revêt les caractères de la cellule adulte seulement lorsqu'il s'est formé autour d'elle une membrane et que les granulations graisseuses comprises dans son intérieur se sont réunies pour constituer une goutte principale (voy. p. 551 et suiv.).

En étudiant l'expansion membraneuse de la queue des têtards en voie de développement, comme l'ont fait Rouget[1] et Leboucq[2], on peut constater que la formation de la myéline dans les segments interannulaires est analogue à celle de la graisse dans les cellules adipeuses. C'est également au sein du protoplasma de ces segments, qui à l'origine ne possédait pas de cavité distincte, que la myéline apparaît sous la forme d'une masse qui s'étend progressivement et finit par les envahir dans toute leur longueur.

Dans la cellule adipeuse, il n'y a rien d'analogue aux incisures obliques. Ces incisures paraissent dépendre de cloisons qui s'étendent entre ce que l'on pourrait appeler le feuillet viscéral et le feuillet pariétal de la lame protoplasmique du segment interannulaire. Ces cloisons, extrêmement minces, n'ont pas été isolées, et par conséquent nous ne savons rien de leur composition chimique. En nous plaçant seulement au point de vue de la morphologie, nous sommes conduit à penser qu'elles sont de simples dépendances du protoplasma des segments.

Si le protoplasma qui double la membrane de Schwann et la gaine médullaire sont interrompus au niveau de chaque étranglement, il n'en est pas de même du cylindre-axe, bien qu'Engelmann[3] l'ait soutenu. Ce cylindre-axe se continue dans toute l'étendue du tube nerveux, et il en constitue la partie essentielle, tandis que les gaines qui l'entourent sont destinées simplement à le protéger et à en assurer les délicates fonctions.

Les fibres de Remak qui, dans tous les nerfs mixtes, sont mélangées aux tubes nerveux proprement dits diffèrent de ces derniers, non seulement parce qu'elles ne possèdent pas de gaine médullaire, mais encore parce qu'elles forment des plexus. A chacun des noyaux de ces fibres, ne correspond pas un territoire cellulaire limité, analogue au segment interannulaire des tubes nerveux. Il serait possible que tous les noyaux qui s'échelonnent le long d'une fibre de Remak appartinssent à une masse protoplasmique unique et

1. *Rouget*, Mémoire sur le développement des nerfs chez les larves de batraciens (*Arch. de physiologie*, 1875, p. 801).

2. *Leboucq*, Recherches sur le développement et la terminaison des nerfs chez les larves de batraciens (*Bull. de l'Acad. royale de Belgique*, mars 1876).

3. *Engelmann*, Ueber Degeneration von Nervenfasern (*Arch. f. die gesammte Physiologie*, t. XIII, 1876, p. 414).

très étendue, qui correspondrait ainsi à une cellule à noyaux multiples. Mais c'est là une simple hypothèse, en faveur de laquelle il y a seulement une preuve négative, et les preuves de cette espèce n'ont pas une très grande valeur dans une science en voie de développement, comme l'est encore l'histologie. Pour montrer combien il faut être réservé dans des conclusions de ce genre, il suffit de faire remarquer que l'on a cru le muscle cardiaque formé par un réseau dont les éléments, fondus les uns avec les autres, constituaient un tout continu, jusqu'à ce que Weissmann d'abord et Eberth ensuite eussent démontré l'existence des éléments cellulaires du cœur.

Les fibres de Remak les plus fines peuvent être formées par une seule fibrille nerveuse; mais lorsque ces fibres ont un diamètre notable, elles sont composées de plusieurs fibrilles. Dans le premier cas, le protoplasma qui entoure leur noyau se répand à leur surface et leur forme une gaine simple, comme on l'observe par exemple, sur les tubes nerveux embryonnaires qui se revêtiront plus tard de myéline, ou sur les fibres sans moelle qui font suite aux tubes nerveux dans le voisinage de leurs terminaisons. Nous aurons souvent, par suite, l'occasion d'observer des fibres nerveuses de cette espèce.

Dans le second cas, c'est-à-dire lorsqu'une fibre de Remak est constituée par plusieurs fibrilles nerveuses, le protoplasma leur forme, non seulement une enveloppe périphérique, mais encore il s'insinue entre elles, de telle sorte que, si l'on pouvait enlever ces fibrilles, il resterait une gangue protoplasmique possédant des noyaux et creusée d'une série de canaux parallèles.

Si nous cherchons encore à rapprocher les fibres de Remak des tubes nerveux proprement dits, nous voyons que, dans les deux espèces de fibres, les fibrilles nerveuses sont également entourées d'une couche de protoplasma qui les protège et qui vraisemblablement joue un rôle important dans leur nutrition.

Nous avons maintenant toutes les données pour comprendre comment se fait la circulation des fluides nutritifs dans l'intérieur des nerfs, et quelles sont les voies par lesquelles s'opèrent les échanges nécessaires à l'entretien et à la fonction des parties essentielles des fibres nerveuses.

Dans les faisceaux nerveux d'un calibre notable, le plasma fourni par les capillaires sanguins se répand autour des fibres nerveuses. C'est dans le plasma qui les baigne que ces fibres puisent les matériaux de leur nutrition et rejettent les produits de désassimilation. Ces échanges doivent se faire, pour les tubes nerveux proprement dits, au niveau des étranglements annulaires, si l'on en juge par la facilité avec laquelle les substances cristalloïdes les traversent pour diffuser dans le cylindre-axe. Peut-être les incisures sont-elles aussi des voies par lesquelles se font ces échanges, mais les faits connus jusqu'ici n'autorisent pas à penser qu'ils y soient très faciles; en effet, les matières colorantes et les solutions de nitrate d'argent ne s'y engagent pas.

Le mode suivant lequel se fait la nutrition intime des fibrilles nerveuses

qui composent les fibres de Remak est beaucoup plus obscur, car les matériaux de nutrition et de désassimilation de ces fibrilles doivent nécessairement traverser le protoplasma qui les enveloppe, et par suite obéir dans une certaine mesure à la direction qu'il leur imprime. Du reste, bien que les fibres de Remak aient une grande importance, puisqu'elles sont les principaux éléments nerveux de tous les viscères, leurs fonctions ne sont certainement pas aussi actives que celles des tubes nerveux. Ceux-ci, par conséquent, doivent échanger plus rapidement les matériaux de leur nutrition, et c'est pour cela que la nature, tout en assurant leur isolation et leur protection plus complètes au moyen de la gaine de myéline, les a pourvus d'étranglements annulaires par lesquels les fluides nutritifs arrivent facilement jusqu'à la partie active de la fibre, le cylindre-axe.

Pour assurer la nutrition des éléments nerveux, le plasma qui les baigne doit être continuellement renouvelé, et pour cela il faut non seulement qu'il en arrive sans cesse du système vasculaire sanguin, mais encore qu'il en soit enlevé, par les absorbants, des quantités équivalentes. Aussi le plasma, après avoir baigné les éléments nerveux, peut-il s'engager entre les différentes lames de la gaine lamelleuse, qui, comme nous le savons, laissent entre elles un système lacunaire continu, et s'échapper dans le tissu conjonctif périfasciculaire, où il est pris par les vaisseaux lymphatiques. Ainsi, malgré que les faisceaux nerveux ne possèdent pas de lymphatiques dans leur intérieur, la résorption de leurs déchets est assurée par la texture spéciale de la gaine lamelleuse, en même temps que cette gaine protège d'une manière efficace les éléments délicats qui les composent.

TERMINAISONS NERVEUSES

Il y a une si grande différence entre les terminaisons motrices et les terminaisons sensitives, que, pour étudier les unes et les autres, on ne peut employer les mêmes méthodes. Il convient donc d'en traiter dans deux chapitres différents.

CHAPITRE XVIII

TERMINAISONS NERVEUSES MOTRICES

Sous le nom de nerfs moteurs, on doit entendre non seulement les nerfs qui se terminent dans les muscles (muscles striés ordinaires, muscle cardiaque, muscles lisses), mais encore tous les nerfs dont la fonction est de transmettre à la périphérie une excitation venue des centres, c'est-à-dire tous les nerfs à action centrifuge. D'après cette définition, on comprendra parmi ces nerfs les nerfs électriques. Nous commencerons ce chapitre par

une étude de l'organe électrique de la torpille et des terminaisons des nerfs dans cet organe, parce que ce sont les plus simples et les mieux connues de toutes les terminaisons motrices.

TERMINAISON DES NERFS DANS L'ORGANE ÉLECTRIQUE DE LA TORPILLE.

Chez les torpilles[1], l'organe électrique, double et symétrique, a une forme semi-lunaire (corps falciforme de Redi). Il occupe tout l'espace compris entre la cage des branchies et la nageoire latérale. Sa face supérieure et sa face inférieure sont en rapport avec la peau ou plutôt avec le tissu conjonctif qui la double.

Pour découvrir l'organe électrique, on fait à la peau de la région dorsale un pli dont on incise la base avec un scalpel ou un rasoir, et l'on continue ensuite la dissection de la peau avec beaucoup de soin, parce que le tissu conjonctif qui la relie à l'organe et se continue dans l'intérieur de celui-ci présente une grande résistance.

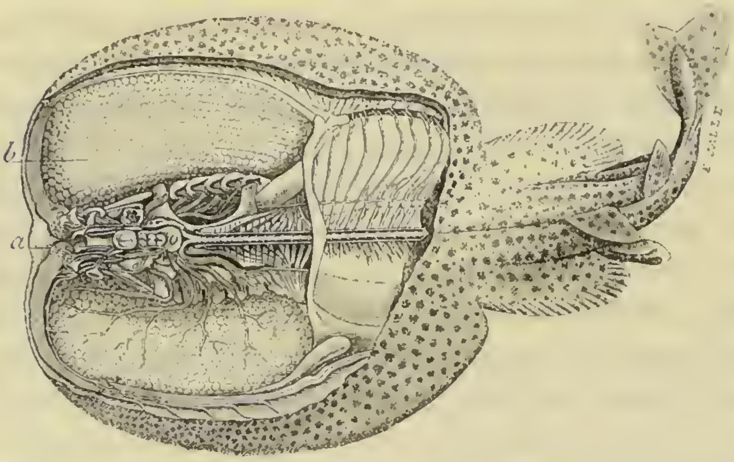


Fig. 276. — Torpille marbrée. — *a*, organe muqueux; *b*, organe électrique; *o*, lobes électriques du cerveau. — 1/1 diam.

Les nerfs qui se distribuent aux organes électriques naissent de deux lobes cérébraux volumineux (lobes électriques) qui n'existent pas chez les autres poissons. De chacun de ces lobes partent cinq nerfs qui se rendent à l'organe électrique correspondant. Ces nerfs, dont les quatre antérieurs ont un diamètre considérable, traversent les cloisons des branchies et arrivent à l'organe électrique au niveau de son bord interne, à peu près au milieu de son épaisseur.

Lorsque l'organe électrique est mis à nu, on y aperçoit un grand nombre de figures polygonales à cinq ou six côtés. Si l'on pratique une incision perpendiculaire à la surface de l'organe, on reconnaît que ces polygones correspondent à autant de prismes s'étendant de la face dorsale à la face ventrale de l'animal et occupant ainsi toute son épaisseur. Ces prismes sont limités par des cloisons connectives résistantes; ils sont formés d'une substance translucide d'un gris rosé et d'une consistance gélatineuse.

Sur une section parallèle à la surface de l'organe électrique, le contenu

1. Deux espèces principales de torpilles habitent les mers qui bordent la France : la torpille marbrée (*T. galvani*) et la torpille ocellée (*T. narke* ou *ocellata*). Toutes deux sont abondantes dans la Méditerranée, et l'on peut en obtenir facilement sur différents points de la côte, notamment à Palavas, près de Montpellier. La torpille marbrée vit également dans l'Océan: on peut se la procurer à Concarneau et à Arcachon.

de chacun des prismes fait saillie, de sorte que toute la surface de cet organe paraît formée de petits monticules.

Si, comme l'a fait Savi[1], on retranche, à l'aide de ciseaux fins et bien tranchants, le sommet de l'un de ces monticules et qu'on l'agite dans l'eau, on le voit se décomposer en lames extrêmement minces. Ces lames, auxquelles on donne le nom de lames électriques, sont disposées les unes au-dessus des autres dans l'intérieur des prismes; elles adhèrent solidement à leurs parois et sont à peu près libres dans le reste de leur étendue; c'est pour cela que le procédé de Savi est excellent pour les isoler.

On devra commencer leur étude par l'examen de préparations obtenues au moyen de l'acide osmique. On peut retrancher avec des ciseaux les monticules qui se forment au niveau des prismes sur l'organe mis à nu et les porter dans le réactif. On peut aussi y placer de petits fragments de l'organe. Vingt-quatre ou quarante-huit heures après, les lames électriques seront fixées dans la forme qu'elles avaient au moment où elles ont été mises dans le réactif. Déjetées, plissées ou revenues sur elles-mêmes, elles garderons ces formes anormales dans les préparations.

Pour éviter cet inconvénient, il faut avoir recours à une autre méthode. Prenant une seringue hypodermique chargée d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100 et munie d'une canule en or, on enfonce cette dernière à peu près horizontalement à travers un premier prisme, et assez profondément pour que sa pointe arrive dans un second ou un troisième prisme, à peu de distance de la surface. On injecte, et l'acide osmique pénètre et diffuse. Les lames électriques sont tendues au moment où l'acide osmique les atteint et les fixe dans leur forme. On retranche avec le scalpel un fragment de l'organe comprenant les prismes injectés, ou bien on enlève avec les ciseaux les monticules qui les terminent. Les portions ainsi recueillies sont placées dans la solution d'acide osmique; on les y laisse pendant vingt-quatre heures, afin de colorer jusque dans leurs dernières terminaisons les fibres nerveuses qu'elles contiennent. Puis on les met dans l'eau distillée pour enlever l'excès du réactif. Alors, l'observant dans un vase à fond blanc, on agit avec les aiguilles pour séparer les lames une à une.

Ces lames sont bombées, comme les monticules dont elles proviennent. Elles ont une face convexe et une face concave. La face convexe est la dorsale et la concave la ventrale, si toutefois on a opéré sur la face dorsale de l'organe, comme on le fait d'habitude.

Si maintenant on prend une lame électrique et qu'on la dispose sur la lame de verre porte-objet, sa face ventrale étant dirigée en haut, on obtient une préparation dans laquelle il sera possible de s'orienter. Pour rendre cette préparation persistante, on peut, après avoir ajouté une lamelle couvre-objet, remplacer lentement l'eau par la glycérine; mais il est bien préférable de conserver les lames électriques qui ont été soumises à l'action de l'acide

1. P. *Savi*. Études anatomiques sur le système nerveux et sur l'organe électrique de la torpille, *publiées à la suite du* Traité des phénomènes électro-physiologiques des animaux, par Matteuc . Paris, 1844.

osmique dans des cellules (voy. p. 125), avec de l'eau phéniquée comme liquide additionnel.

Une préparation faite d'après ce procédé, étudiée à un grossissement de 150 à 200 diamètres, montre, sur un premier plan, des vaisseaux capillaires et des fibres nerveuses, entre lesquels se distinguent des cellules connectives ramifiées et étoilées; sur un second plan, une lame granulée qui correspond

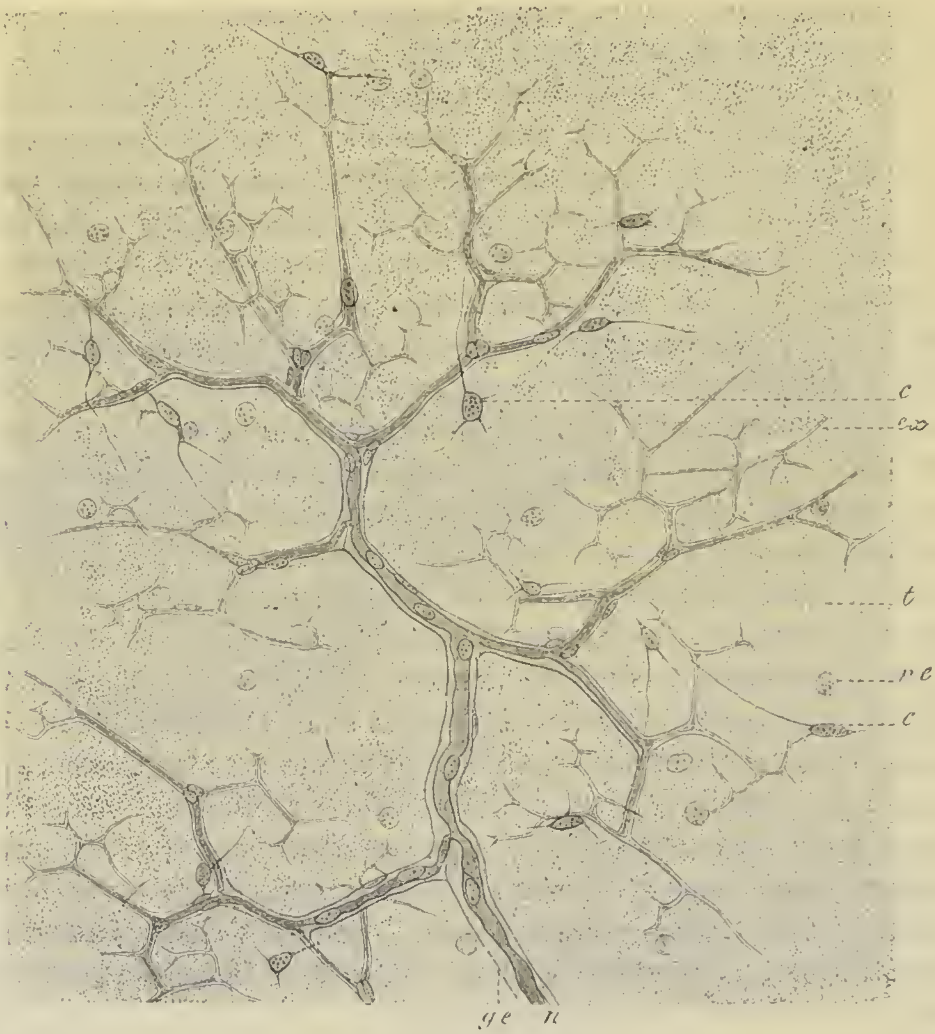


Fig. 277. — Lame de l'organe électrique de la torpille marbrée, se présentant par sa face ventrale. Préparation obtenue par dissociation après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100 et macération dans la même solution pendant 24 heures. — *n*, tube nerveux; *ge*, gaine secondaire; *ex*, ramifications en bois de cerf de Wagner; *c*, cellules connectives du tissu conjonctif muqueux; *t*, granulé correspondant à l'arborisation terminale; *ne*, noyaux de la couche intermédiaire. — 300 diam.

aux ramifications terminales des fibres nerveuses, et un peu plus profondément, des noyaux arrondis.

Les fibres nerveuses cheminent isolément à la face ventrale de la lame électrique; chacune d'elles se divise et se subdivise de manière à former une arborisation dont les derniers rameaux sont en très grand nombre; un seul tube nerveux peut ainsi couvrir de ses ramifications une surface d'une notable étendue.

Il y a lieu de distinguer, avec R. Wagner[1], deux ordres de fibres nerveuses dans les lames électriques de la torpille : des fibres de premier ordre, celles qui sont encore enveloppées de myéline ; et des fibres de second ordre, celles qui en sont dépourvues.

Les fibres de premier ordre donnent naissance à des ramifications successives, latérales et terminales.

Les fibres de second ordre, ou fibres sans myéline, font suite aux premières; elles continuent de se ramifier et se terminent en se recourbant et en présentant une forme spéciale que R. Wagner a comparée à celle des bois de cerf et qu'il a décrite sous ce nom[2].

Après cette description sommaire des deux ordres de fibres que l'on trouve dans les lames électriques, il convient d'en étudier la structure.

Les fibres à myéline, fixées par l'acide osmique et conservées dans l'eau phéniquée, se présentent avec une admirable netteté. Elles possèdent une enveloppe extérieure cylindrique membraneuse (gaine secondaire) qui est munie, comme la gaine de Henle (voy. p. 576), de noyaux appliqués sur sa face profonde. Les tubes nerveux proprement dits contenus dans ces gaines diffèrent par quelques caractères de ceux qui ont été étudiés dans le chapitre précédent chez les mammifères et chez les batraciens. Au niveau des étranglements annulaires, les segments, au lieu de se terminer par une extrémité renflée, s'effilent en forme de cône; dans le fond de l'étranglement, il existe une légère saillie qui correspond au renflement biconique. La barre transversale claire qui chez les mammifères, après l'action de l'acide osmique, accuse si nettement les étranglements, manque chez les torpilles, et dès lors on pourrait croire que la gaine médullaire n'est pas interrompue à leur niveau. Il n'en est rien. Chez ces animaux, ainsi que chez tous les plagiostomes, les cylindres-axes se colorent en noir sous l'influence de l'acide osmique[3]; et comme la pénétration du réactif se fait très facilement au niveau des étranglements annulaires, il s'ensuit qu'ils y sont colorés en noir encore plus fortement que dans les autres points de leur trajet.

1. *R. Wagner*, Ueber den feineren Bau des electrischen Organs in Zitterrochen. *Goettingue*, 1847.

2. R. Wagner (*loc. cit.*), qui avait examiné les lames électriques de la torpille à l'état frais sans addition d'aucun réactif, a pensé que les ramifications en bois de cerf correspondaient à la terminaison des nerfs électriques, qui dès lors posséderaient des extrémités libres. Antérieurement, Savi (*loc. cit.*), qui avait également étudié les lames électriques à l'état frais, mais probablement avec des objectifs de qualité inférieure, avait cru reconnaître que les ramifications nerveuses terminales forment dans ces lames un réseau à larges mailles. Savi a publié un dessin de la préparation qu'il avait sous les yeux. En l'examinant, on se convainc facilement que l'auteur n'est pas arrivé à isoler complètement une lame électrique, et que son observation a porté sur plusieurs lames superposées. Ses objectifs étant insuffisants, il n'a pu distinguer les uns des autres les objets placés à des plans différents, et il a cru que des fibres nerveuses qui étaient simplement superposées étaient anastomosées les unes avec les autres.

Cependant Savi a fait dans son étude des lames électriques une découverte d'une grande importance, en reconnaissant pour la première fois dans ces lames la division successive d'une fibre nerveuse.

3. *Des étranglements annulaires et des segments interannulaires chez les raies et les torpilles* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 4 nov. 1872).

La division des fibres nerveuses de premier ordre se fait toujours au niveau d'un étranglement annulaire. Ce fait rentre dans une loi générale qui n'offre pas d'exceptions : *La bifurcation ou l'émission d'une branche nerveuse se fait toujours dans les tubes nerveux à myéline au niveau d'un étranglement annulaire.*

La gaine de Schwann se moule exactement sur les trois segments interannulaires, au point où ils s'unissent. Il n'en est pas de même de la gaine secondaire, qui est loin de les envelopper aussi étroitement ; ainsi, lorsqu'un tube se bifurque, sa gaine secondaire continue souvent à embrasser dans une enveloppe unique les deux nouveaux tubes, et c'est un peu plus

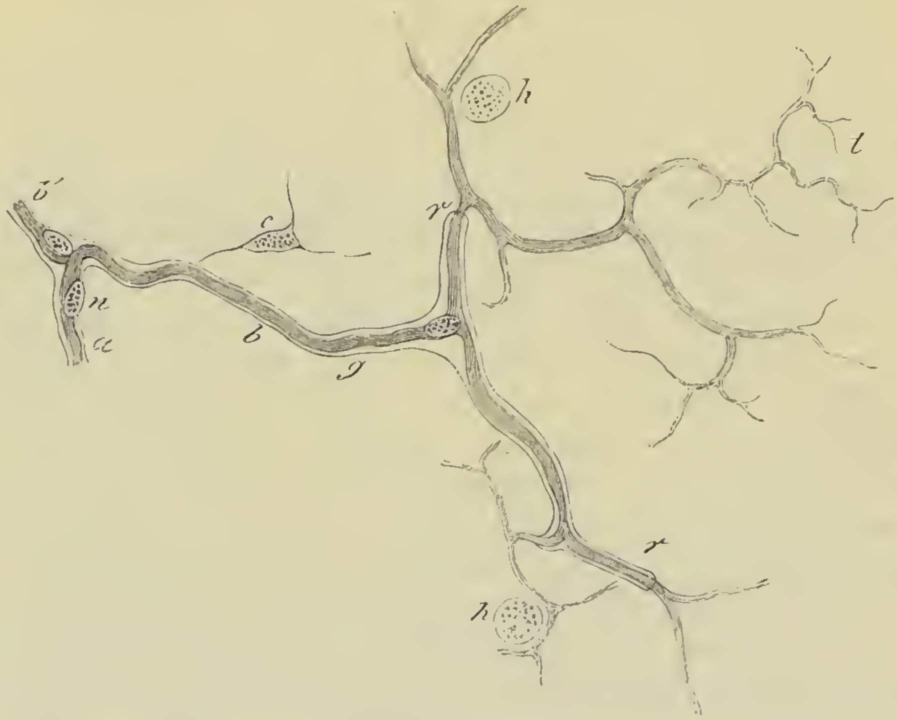


Fig. 278. — Terminaison de la gaine secondaire sur les fibres nerveuses sans myéline des lames électriques de la torpille. Préparation faite par dissociation après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, et macération pendant 24 heures dans le même réactif : examen dans l'eau phéniquée. — *a*, branche nerveuse d'origine ; *b*, *b'*, branches secondaires ; *c*, cellule connective ; *g*, gaine secondaire ; *r*, *r*, anneaux terminaux de la gaine secondaire ; *h*, noyaux de la couche intermédiaire ; *l*, ramifications en bois de cerf. — 500 diam.

loin seulement qu'elle se divise pour donner à chacun d'eux sa gaine spéciale.

En se divisant et en se subdivisant, les tubes nerveux à myéline deviennent de plus en plus grêles et leurs segments de plus en plus courts, ce qui est en rapport avec une loi qui a déjà été formulée, à savoir que les segments interannulaires sont d'autant moins longs que le tube auquel ils appartiennent est d'un diamètre moindre.

Lorsqu'une fibre sans myéline ou de second ordre naît d'une fibre de premier ordre, le dernier segment interannulaire de celle-ci s'effile, sa gaine médullaire diminue d'épaisseur, comme au niveau d'un étranglement, et disparaît, laissant la gaine de Schwann enserrer étroitement le cylindre-axe, tandis que la gaine secondaire lui forme une seconde enveloppe plus lâche. La gaine de Schwann se poursuit sur les dernières ramifications nerveuses,

sans qu'il soit possible d'y reconnaître un point où elle disparaîtrait. Il n'en est pas de même de la gaine secondaire. Quelquefois sur la première, d'autres fois sur la seconde ou sur la troisième ramification de la fibre nerveuse à partir de la fin de la gaine de myéline, la gaine secondaire s'arrête en embrassant cette fibre comme d'un anneau. Le contour de cette gaine, qui se dessinait nettement à une certaine distance de la fibre, se recourbe brusquement vers elle et s'y termine (*r*, fig. 278). Dans certains cas, cette courbure est même si accentuée, qu'il semblerait que la membrane se replie sur la fibre et qu'elle se comporte à son égard comme une séreuse.

Cette disposition ne peut être observée que dans des lames électriques conservées dans de l'eau phéniquée. Lorsqu'elles sont montées dans la glycérine ou dans le baume du Canada, il est impossible d'en rien reconnaître, parce qu'alors la gaine secondaire vient s'appliquer exactement sur le tube nerveux qu'elle entoure.

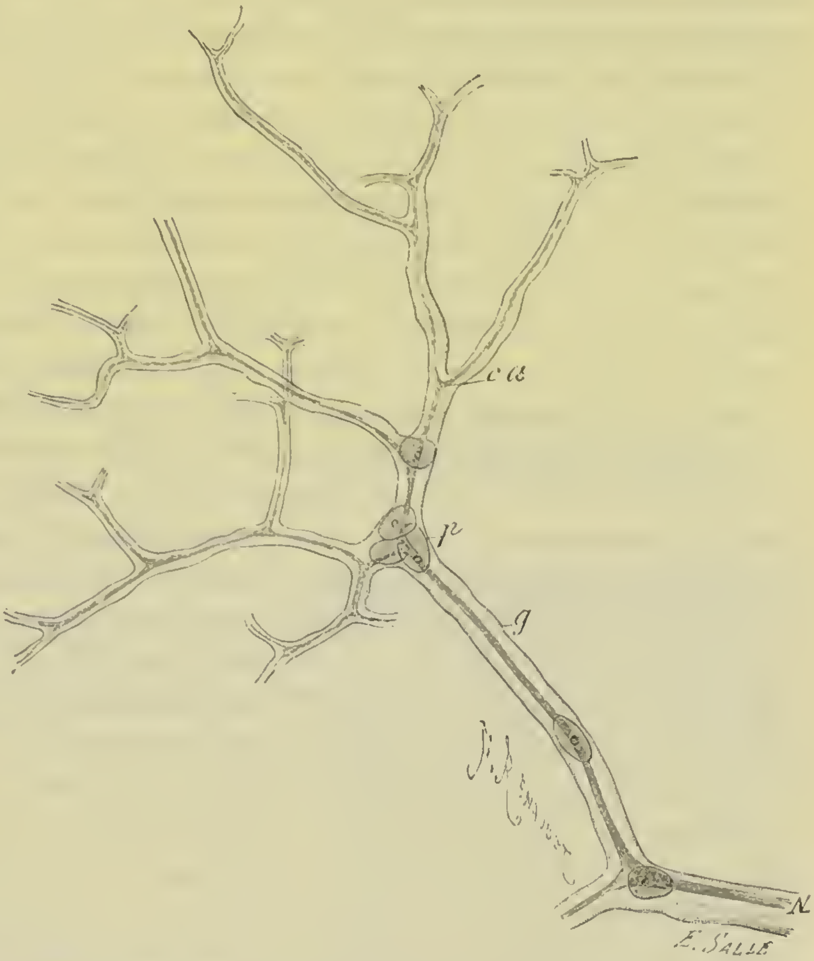


Fig. 279. — Tube nerveux ramifié d'une lame électrique de la torpille, traitée successivement par le bichromate d'ammoniaque et le chlorure double d'or et de potassium. — N, cylindre-axe; *g*, gaine secondaire; *p*, groupe de noyaux de la gaine secondaire dans le voisinage de sa terminaison; *ca*, bifurcation du cylindre-axe en forme de chiasma. — 500 d.

Dans la partie de leur trajet où elles sont encore enveloppées de la gaine secondaire, les fibres de second ordre présentent au niveau de leurs bifurcations un ou plusieurs noyaux. Ces noyaux appartiennent à la gaine secondaire; il ne s'en trouve jamais à la surface des fibres au delà de la terminaison de cette gaine.

Dans des lames électriques isolées après injection interstitielle d'acide osmique, sans macération ultérieure dans le même réactif, on peut constater que les cylindres-axes possèdent une striation longitudinale manifeste qui correspond à leur constitution fibrillaire. Il est intéressant de déterminer comment se comportent leurs fibrilles au niveau de leurs bifurcations. Pour faire cette observation, il faut employer la méthode suivante : Un fragment

de l'organe électrique, enlevé à une torpille vivante, est mis à macérer dans le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 ; puis il est dissocié dans l'eau en suivant le procédé de Savi, et les lames isolées sont placées pendant vingt-quatre heures dans le chlorure double d'or et de potassium à 1 pour 10000 ; c'est là un procédé que Gerlach a recommandé pour l'étude du système nerveux central. Ces lames sont ensuite lavées, montées dans la glycérine et exposées à la lumière du jour. Lorsque la réduction de l'or s'y est faite complètement, les cylindres-axes y apparaissent amincis et colorés en violet. Au niveau des bifurcations (*ca*, fig. 279), ils présentent des figures triangulaires qui semblent correspondre à de véritables chiasmas, c'est-à-dire que, outre les fibrilles qui vont du cylindre-axe principal dans les deux ramifications, on en voit qui passent de l'une de ces ramifications dans l'autre.

Quelques mots maintenant au sujet des cellules connectives que l'on peut facilement étudier dans les préparations faites avec l'acide osmique, suivant la méthode qui a été indiquée tout d'abord. Placées entre les différentes fibres nerveuses et les vaisseaux capillaires, elles appartiennent au tissu muqueux qui en remplit les intervalles et sur lequel repose la lame électrique proprement dite. Elles sont étoilées. Leurs angles sont mousses; elles contiennent un noyaux volumineux, de sorte que leur protoplasma se trouve réduit à une couche mince. De leurs angles partent des prolongements protoplasmiques qui se dirigent dans différents plans et dont les ramifications extrêmement grêles s'anastomosent avec les prolongements des cellules voisines. Ces cellules, analogues à celles qui existent dans le tissu muqueux si largement distribué dans l'organisme de plagiostomes, ne diffèrent des cellules du tissu conjonctif fasciculé que par leur forme polyédrique, et cette différence est due au milieu où elles se trouvent. Les cellules du tissu conjonctif ne possèdent en effet la forme aplatie que parce qu'elles ont été comprimées entre des surfaces opposées. Les cellules du tissu muqueux, au contraire, situées au milieu d'une masse molle, ne sauraient être comprimées dans un sens déterminé. Remak (*loc. cit.*) a fait remarquer, à propos de ces cellules, que leurs prolongements ne s'anastomosent pas avec les nerfs. Il se proposait de mettre ainsi à l'abri d'une erreur presque inévitable des observateurs inexpérimentés ou enthousiastes.

En étudiant les mêmes préparations à des grossissements de 500 à 1000 diamètres, on peut s'assurer que les ramifications en bois de cerf ne constituent pas, comme l'avait cru Wagner, la terminaison des nerfs électriques. Cette terminaison se fait au delà, dans le granulé fin qui occupe la surface ventrale de la lame électrique proprement dite, et dans lequel, à un grossissement de 300 à 400 diamètres, on peut déjà reconnaître l'existence d'un réseau [1] ou plutôt d'une sorte d'arborisation fine et délicate.

1. *Kölliker* d'abord (Ueber die Endigungen der Nerven in den electrischen Organ der Zitterrochen. *Verhandl. der physico-med. Gesellschaft in Würzburg*, t. VIII, 1858, p. 2), ensuite *Max Schultze* (Zur Kenntniss der electrischen Organe der Fische, 2[te] Abtheilung : Torpedo. *Halle*, 1859), et *F. Boll* (Die Structur der electrischen Platten von Torpedo. *Arch. f. micr. Anat.*, X., 1875, p. 101), en étudiant les lames électriques, les deux premiers sans addition d'aucun réactif, le troisième après les avoir traitées par l'acide

Avec un objectif à immersion puissant, l'observation de l'arborisation terminale est plus certaine, et l'on peut déjà distinguer la véritable forme de cette arborisation, surtout si l'on a appris à la connaître par l'étude de préparations faites avec le nitrate d'argent ou le chlorure d'or, préparations dont il sera question un peu plus loin.

Au-dessous de l'arborisation terminale, il existe des noyaux volumineux, sphériques, limités par un double contour. Leur groupement irrégulier ne rappelle en rien celui des noyaux d'un pavé épithélial. Ils sont parfois entourés d'une zone claire, circulaire ou elliptique, qui ne correspond pas à un corps cellulaire, et qui provient du retrait ou quelquefois d'un plissement de la substance dans laquelle il sont contenus. Cette substance est semée de granulations inégales, colorées en brun par l'acide osmique.

Dans les préparations faites à l'aide de l'acide osmique et examinées simplement à plat, il est déjà possible de reconnaître que les lames électriques proprement dites sont au moins formées de deux couches, l'arborisation terminale et la membrane granuleuse sous-jacente dans laquelle sont logés les noyaux. Mais c'est surtout dans les coupes transversales de ces lames que l'on appréciera facilement le nombre des couches qui entrent dans leur constitution. Ces coupes doivent être faites par le procédé suivant : un fragment de l'organe électrique, dans lequel on a pratiqué une injection interstitielle d'acide osmique, est placé dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100; il peut y être conservé plusieurs mois et même plusieurs années; mais il n'y acquiert jamais une consistance suffisante, et dès lors il est nécessaire de le traiter encore par la gomme et l'alcool. Les coupes seront pratiquées parallèlement à l'axe des prismes. Toutes les lames ne seront cependant pas tranchées d'une façon exactement perpendiculaire à leur surface; cela tient à ce qu'elles possèdent une étendue plus grande que la section transversale des prismes, et que, pour y être contenues, elles sont forcément plissées ou repliées sur elles-mêmes. Néanmoins, il y en aura toujours quelques-unes qui, au moins dans certaines portions de leur étendue, seront sectionnées suivant un plan bien perpendiculaire à leur surface. Elles seront placées dans l'eau pour dissoudre la gomme, puis colorées par l'hématoxyline, et enfin montées dans la glycérine. Ces préparations ne sont pas absolument persistantes; au bout de quelques mois, elles sont complètement décolorées.

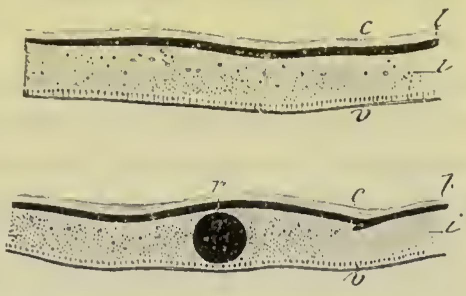


Fig. 280. — Coupe transversale des lames de l'organe électrique de la torpille, faite après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100; macération des fragments de l'organe injecté dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, et action subséquente de la gomme et de l'alcool pour compléter le durcissement. Coloration par l'hématoxyline. — *c*, tissu conjonctif qui double la face dorsale de la lame électrique; *l*, lamelle dorsale; *i*, couche intermédiaire; *v*, lamelle ventrale. — 1200 diam.

osmique, ont décrit ce réseau comme formé par des branches anastomosées les unes avec les autres de manière à limiter des mailles polygonales. Mais c'est là une erreur, ainsi qu'on en jugera plus loin.

Lorsque leur coloration est encore bien nette, on y distingue cinq couches qui, de la partie dorsale à la partie ventrale, sont : 1° des fibres connectives fines entre-croisées, qui n'appartiennent pas à proprement parler à la lame électrique et qui lui constituent une membrane de soutien et de protection : 2° au-dessous d'elles, une lame mince, fortement colorée en bleu, vitrée, sans structure, *lamelle dorsale;* 3° une couche, *couche intermédiaire,* qui occupe la plus grande épaisseur de la membrane; elle est incolore, granuleuse, et dans son intérieur sont contenus les noyaux ronds que nous connaissons déjà et qui sont colorés en bleu foncé ; 4° une quatrième couche, striée perpendiculairement à la surface de la membrane; la striation est produite par une série de bâtonnets ou de cils courts, *cils électriques*[1], colorés en bleu et placés à peu près à égale distance les uns des autres : 5° la dernière couche du côté ventral de la lame électrique, colorée en bleu, est extrêmement mince, elle correspond à l'*arborisation terminale.*

De ces cinq couches, quatre seulement appartiennent à la lame électrique proprement dite : la lamelle dorsale, la couche intermédiaire, les cils électriques et l'arborisation terminale.

Dans les coupes transversales colorées par l'hématoxyline, les cils électriques paraissent implantés sur l'arborisation terminale, Mais, pour compléter l'étude de ces rapports et surtout pour déterminer la forme exacte de l'arborisation terminale, il faut avoir recours à d'autres méthodes dont il va maintenant être question. Ces méthodes sont l'imprégnation d'argent, le traitement par l'or et la coloration par l'hématoxyline.

Pour réussir l'imprégnation d'argent des lames de l'organe électrique, il faut d'abord enlever avec le plus grand soin la peau qui recouvre cet organe, en évitant d'entamer les prismes; puis, passant la main au-dessous de l'animal, on fait bomber la surface dorsale dénudée de l'organe, et, prenant avec une pince un cristal de nitrate d'argent un peu gros, on le passe à plusieurs reprises sur la surface saillante et tendue de prismes jusqu'à ce qu'elle devienne opaque et blanchâtre. Ensuite, d'un trait de rasoir on enlève les parties qui ont été atteintes par le nitrate d'argent, et on les plonge dans l'eau distillée. Puis, avec des ciseaux on retranche la calotte de l'un des prismes et l'on dissocie les lames qu'elle contient, en suivant le procédé qui a été indiqué plus haut à propos des préparations faites au moyen de l'acide osmique. La dissociation est difficile, et il est nécessaire d'y mettre du soin. Le résultat n'est pas constant, c'est-à-dire que l'effet du nitrate d'argent n'est

1. Remak (Ueber die Enden der Nerven im electrischen Organ der Zitterrochen, *Müller's Archiv,* 1856, p. 467) a fait la première observation relative aux cils électriques. Sur des lames électriques fraîches, repliées sur elles-mêmes de manière à montrer leur coupe optique sur le bord du pli, il a reconnu que les branches nerveuses qui constituent l'arborisation terminale se recourbent et donnent des filaments qui pénètrent dans l'épaisseur de la membrane et y forment une palissade régulière. Depuis lors, F. Boll (die Structur der electrischen Platten von Torpedo. *Arch. f. micr. Anat.*, X. 1873, p. 101) a décrit plus exactement la même disposition. Il a beaucoup insisté sur la ponctuation fine que l'on reconnaît sur les lames examinées à plat, ponctuation qui correspond évidemment aux palissades de Remak. (Voy. pour plus amples renseignements et pour les détails de l'historique, *Leçons sur l'histologie du système nerveux,* t. II, p. 93 et suiv.)

pas le même sur les différentes lames qu'il a atteintes. Bien plus, il y a des lames qui présentent, dans certaines parties seulement de leur étendue, l'imprégnation régulière de l'arborisation terminale. Dans ces parties, les branches nerveuses terminales qui font suite aux ramifications en bois de cerf, ménagées par l'argent, se détachent en blanc sur un fond brun plus ou moins foncé. Légèrement rétrécies par places, élargies dans d'autres, elles se divisent, se subdivisent et, après avoir fourni une arborisation complète, elles se terminent par des bourgeons ou des boutons[1].

Quelques branches de l'arborisation sont anastomosées les unes avec les autres. Mais il serait possible que le nitrate d'argent eût épargné une portion du fond située entre deux bourgeons libres; il ne serait pas impossible non plus que ce réactif eût coloré quelques portions des ramifications nerveuses et interrompu par conséquent des mailles fermées. Il reste donc sur l'exactitude absolue de la disposition observée certains doutes, malgré que les préparations soient parfaitement nettes. Ces doutes seront bientôt levés par l'emploi des méthodes de coloration par l'or et par l'hématoxyline; mais avant de décrire ces méthodes, il convient d'indiquer encore quelques détails intéressants que l'on peut observer sur les lames électriques qui ont été soumises à l'action du nitrate d'argent.

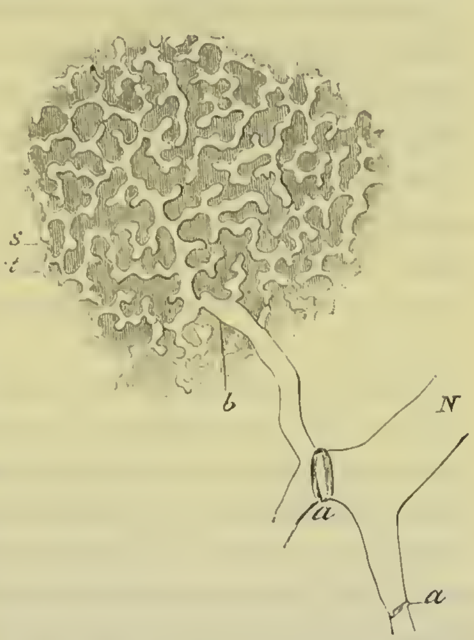


Fig. 281. — Lame électrique de la torpille, imprégnée d'argent et examinée par sa face ventrale. — N, fibre nerveuse de second ordre; *a*, *a*, anneaux terminaux de la gaine secondaire; *b*, dernière branche nerveuse correspondant aux ramifications en bois de cerf; *t*, arborisation terminale; *s*, mailles comprises entre les branches de l'arborisation terminale. — 1000 diam.

Souvent on y distingue des images réservées en clair à contours vagues, qui, d'après leur proportion et leur forme, semblent correspondre aux vaisseaux capillaires et aux fibres nerveuses de premier ordre. Voici comment elles se produisent. C'est par leur face dorsale que les lames électriques ont

1. Les boutons ou les bourgeons de l'arborisation terminale ont été décrits pour la première fois par Remak (*loc. cit.*). Depuis, Kölliker, Max Schultze et Boll, dans des travaux dont l'indication a été donnée plus haut, nièrent expressément ce mode de terminaison et soutinrent que la terminaison des nerfs dans l'organe électrique se fait par un réseau dont les mailles polygonales sont fermées. La réalité des terminaisons en boutons ou en bourgeons a été démontrée par Ciaccio (*Nuove osservazioni intorno all' intima tessitura dell' organo elettrico della torpedine*, Lo Spallanzani, 1875, nº 10), par moi-même (*Sur les terminaisons nerveuses dans les lames électriques de la torpille*, in *Comptes rendus*, 20 décembre 1875), et par Boll (*Nuove ricerche sulla strutture del piastrina elettricha della torpedine*. Rome, 1876). Ciaccio a cependant adopté une opinion mixte, à savoir que, s'il y a des terminaisons en bourgeons, il se présente également des anastomoses; dès lors l'arborisation terminale posséderait quelques mailles fermées et constituerait un réseau incomplet. Comme on le verra par la suite, la manière de voir de Ciaccio est en rapport avec les faits. (Voy. pour plus amples renseignements, *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. II, p. 104.)

été attaquées avec le nitrate d'argent. Si donc un objet quelconque s'est trouvé en contact avec cette face dorsale, il a dû la garantir plus ou moins de l'action du réactif sur toute l'étendue qu'il occupait, et la portion restée incolore donnera précisément l'image de cet objet. C'est ainsi que les ramifications vasculaires et nerveuses qui se trouvent dans le tissu muqueux interposé aux différentes lames dessinent leur silhouette sur la face dorsale de la lame inférieure, bien qu'elles ne lui appartiennent pas.

Les vaisseaux capillaires qui se trouvent entre les lames électriques montrent parfois, comme on l'a vu page 446, leur endothélium admirablement imprégné.

Un autre détail intéressant est relatif à la terminaison de la gaine secondaire sur les fibres nerveuses de second ordre. Là où l'acide osmique nous a montré cette gaine se terminant par une sorte de bourrelet, se dessine un anneau noir très net analogue à celui que présentent les fibres à myéline au niveau des étranglements annulaires. J'ai donné à ces anneaux le nom d'*anneaux terminaux* de la gaine secondaire[1].

Le chlorure double d'or et de potassium peut être employé utilement à l'étude de l'arborisation terminale des lames électriques. On fera agir ce réactif après que ces lames auront déjà été traitées par l'acide osmique. L'acide osmique, en effet, bien qu'il colore en noir les cylindres-axes des nerfs des torpilles, ne donne pas à leurs dernières terminaisons dans l'organe électrique une coloration suffisante pour permettre de bien juger de leur forme; mais, lorsque des lames électriques fortement imprégnées d'osmium sont soumises à l'action du chlorure double d'or et de potassium, les différentes branches de l'arborisation terminale prennent une coloration violette assez intense pour qu'il soit possible d'en apprécier exactement la disposition.

Les préparations fournissent alors une image positive de l'arborisation terminale[2], tandis que le nitrate d'argent en donne une image négative. Ces images sont analogues. Dans les unes comme dans les autres, on distingue des bourgeons terminaux et quelques anastomoses des branches de l'arborisation terminale : en outre, dans les préparations à l'or, au-dessous de l'arborisation terminale, il existe des points violets régulièrement disséminés qui correspondent aux palissades de Remak, à la ponctuation de Boll, et par conséquent aux cils électriques.

Pour bien réussir ces préparations, il faut employer le procédé suivant : Des lames électriques, isolées après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100, suivie d'une macération de vingt-quatre heures dans le même réactif, sont conservées pendant quelques jours dans l'alcool au tiers. Lavées à l'eau distillée, elles sont placées sur une lame de verre porte-objet, leur face ventrale étant dirigée en haut. On verse à leur surface quelques gouttes d'une solution de chlorure d'or et de potassium à 1 pour 200, et presque immédiatement il s'y produit des changements de coloration.

1. Voy. *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. II, p. 146.

2. *Sur les terminaisons nerveuses dans les lames électriques de la torpille* (*Comptes rendus*, 20 décembre 1875).

La lame électrique, qui était noirâtre, devient verdâtre, bleu sale ou violette. Les lames violettes sont les seules convenables pour l'étude. Elles seront conservées dans la glycérine après avoir été lavées dans l'eau distillée.

Au moyen de l'hématoxyline, on arrive également à colorer l'arborisation terminale de manière à en rendre bien nets tous les détails. A ce propos, il convient de faire remarquer que les branches de cette arborisation sont tellement délicates que, de tous les réactifs fixateurs employés en histologie, l'acide osmique paraît être le seul qui n'en altère pas la forme. D'un autre côté, lorsque son action sur les tissus a été prolongée, il entrave la coloration de ces tissus par le carmin et même par l'hématoxyline. Aussi, pour réussir la coloration de l'arborisation terminale par ce dernier réactif, est-il nécessaire que l'acide osmique l'ait simplement fixée sans l'avoir trop profondément atteinte. Pour cela, il faut d'abord pratiquer dans l'organe électrique tout à fait frais une injection interstitielle d'acide osmique à 1 pour 100. Les parties de l'organe qu'il aura pénétrées seront placées dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, dans laquelle on pourra les conserver plusieurs mois. Les lames électriques ont été attaquées à des degrés divers par l'acide osmique, qui a fixé et noirci le plus fortement celles qui se trouvaient au voisinage de la pointe de la canule, tandis que plus loin son action a été affaiblie progressivement.

L'isolation de ces lames doit être pratiquée dans l'eau; on sépare quelques-unes de celles qui se trouvent à la limite de la portion de l'organe atteinte par l'osmium; parmi elles, il faut choisir, et c'est là le point important, celles qui sont dans de bonnes conditions pour la coloration. A un grossissement de 150 diamètres et sans les recouvrir d'une lamelle de verre, on les reconnait à la présence du granulé très régulier, caractéristique de l'arborisation terminale. On verse sur elles quelques gouttes de la solution d'hématoxyline ancienne. Au bout de quelques minutes, la coloration est généralement produite; la lame est alors lavée, déshydratée au moyen de l'alcool, éclaircie par l'essence de térébenthine et montée dans la résine dammare. A un grossissement de 500 à 600 diamètres, l'arborisation terminale, colorée en violet foncé, paraît très nettement dessinée; elle se détache sur les parties intermédiaires qui sont à peine teintées. En suivant les ramifications nerveuses, on reconnaît que presque toutes se terminent par des boutons, mais on observe aussi des anastomoses. Au-dessous et à côté des branches de l'arborisation, les cils électriques se traduisent par autant de points bleus.

Lorsque, à l'aide de toutes les méthodes qui viennent d'être indiquées, on a acquis des notions précises sur l'arborisation terminale des nerfs électriques, on peut, en examinant à l'état frais et sans addition d'aucun réactif les lames qui la contiennent, contrôler ces notions d'une manière très fructueuse. Les préparations que l'on doit faire pour cela ne sont pas difficiles à exécuter : chez une torpille encore vivante et dont l'organe électrique vient d'être dénudé, on enlève avec des ciseaux le sommet d'un prisme, on le place sur une lame de verre porte-objet, on le dissocie rapidement avec deux

aiguilles et on le recouvre d'une lamelle de verre. Il y a presque toujours dans la préparation quelques lames électriques suffisamment isolées et qui se présentent par leur face ventrale.

Après avoir constaté, à l'aide d'un grossissement moyen, qu'elles sont bien disposées, on applique à leur étude un objectif à immersion d'un pouvoir amplifiant considérable. Lorsque l'objectif est exactement au point sur les branches de l'arborisation terminale, on reconnaît sans difficulté qu'elles affectent une disposition semblable à celle qui se montre dans les préparations faites au moyen de l'acide osmique, lorsqu'elles ont été virées par l'or ou colorées par l'hématoxyline, c'est-à-dire qu'elles se terminent par des boutons et présentent quelques anastomoses. Lorsque l'on abaisse légèrement l'objectif, la ponctuation qui correspond aux cils électriques apparaît avec une admirable netteté. Dans un plan un peu inférieur à la ponctuation, les granulations de la couche intermédiaire peuvent être aperçues; elles sont animées de mouvements browniens (voy. p. 146). Cette dernière observation établit, ce qu'il était impossible de reconnaître à l'aide des méthodes précédemment indiquées, que la couche intermédiaire est liquide ou semi-liquide.



Fig. 282. — Lame de l'organe électrique de la torpille, isolée après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et macération prolongée dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100. Après coloration par l'hématoxyline, la préparation a été montée dans le baume du Canada. — *b*. rameau terminal; *t*. arborisation terminale; *n*, noyau de la couche intermédiaire fortement coloré. — 800 diam.

Il faut étudier maintenant les rapports des lames électriques entre elles et avec les cloisons des prismes. Si, après avoir fait durcir un organe électrique par l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool, on y fait des coupes minces parallèles à l'axe des prismes, on peut, après avoir enlevé la gomme de ces coupes par un séjour convenable dans l'eau, constater, en les étalant sur une lame de verre avec des aiguilles, qu'il existe entre les prismes un espace cloisonné très complexe. Si alors, après avoir coloré la préparation avec le picrocarminate, l'hématoxyline ou encore mieux avec l'hématoxyline et l'éosine (voy. p. 89, note 1), on la monte dans la glycérine pour l'examiner au microscope, on reconnaît, à l'aide d'un faible grossissement, que les prismes sont séparés les uns des autres par un système de cloisons membraneuses qui présente avec la gaine lamelleuse des nerfs la plus grande analogie. Ces cloisons sont formées par des faisceaux de tissu conjonctif, des fibres élastiques, une substance unissante et un revêtement endothélial qui en recouvre les deux faces. Elles présentent des fenêtres simples ou réticulées analogues à celles que l'on observe dans un grand nombre de membranes connectives, notamment dans les lames de la gaine des nerfs (voy. p. 581), et elles s'anastomosent les unes avec les autres en formant un système de tentes (voy. p. 585).

Les faisceaux connectifs qui entrent dans la constitution de ces diverses cloisons deviennent de plus en plus grêles à mesure que l'on se rapproche des prismes, qui sont eux-mêmes revêtus d'une membrane mince constituée par des fibres connectives fines et entrelacées. C'est sur cette dernière membrane, *gaine intime des prismes*, que viennent s'attacher les lames électriques.

Pour comprendre le mode suivant lequel se fait l'insertion des lames électriques sur la gaine intime, il faut avoir présent à l'esprit que ces lames sont formées de trois parties essentielles : la lamelle dorsale, la couche intermédiaire et la lamelle nerveuse, qui correspond à l'arborisation terminale et aux cils électriques qui la doublent.

La lamelle dorsale, arrivée au niveau de la gaine intime, se replie et se prolonge sur cette dernière pour se terminer brusquement au voisinage immédiat de la lame sous-jacente. La lamelle nerveuse l'accompagne et se replie avec elle. Les cils qui en garnissent la face profonde se montrent encore au niveau du coude qu'elle forme et au commencement de sa portion réfléchie, mais ils diminuent progressivement de hauteur et finissent par disparaître. La couche intermédiaire s'amincit graduellement dans la portion réfléchie de la lame; on y distingue encore les noyaux et les granulations caractéristiques (fig. 285).



Fig. 285. — Attache des lames électriques de la torpille à la gaine intime des prismes. — *cl*, gaine intime des prismes électriques; *v*, lamelle nerveuse ou ventrale; *p*, lamelle dorsale; *e*, couche mince de tissu conjonctif qui double la lame électrique sur sa face dorsale; *b*, couche intermédiaire; *n*, noyaux de cette couche; *a*, portion réfléchie de la lame électrique. — 400 diam.

Cette disposition coudée que présentent sur une coupe les lames électriques au point où elles s'attachent à la gaine intime, correspond en réalité à une bordure circulaire, de telle sorte que la forme de ces lames est comparable à celle d'un cristallisoir renversé. Entre les différentes lames, la gaine intime envoie de petits faisceaux conjonctifs qui se dispersent pour tapisser la face dorsale de chacune d'elles, et qui constituent une membrane de soutien (*e*, fig. 285) dont il a déjà été question page 605.

C'est dans la cloison lamelleuse des prismes et dans leur gaine intime que cheminent les nerfs desquels partent les tubes nerveux qui pénètrent entre les différentes lames pour se distribuer sur leur face ventrale. Ces nerfs, dont la structure ne diffère pas essentiellement de celle des nerfs à myéline en général, présentent cependant certaines dispositions dont l'étude n'est point sans intérêt.

Nous avons déjà fait remarquer (p. 591) que les tubes nerveux qui entrent

dans la constitution de ces nerfs ont des segments interannulaires relativement très courts. En outre, comme dans les tubes nerveux des différents nerfs à myéline chez tous les plagiostomes, les étranglements annulaires présentent la forme que nous avons décrite à propos des tubes nerveux compris entre les lames électriques (voy. p. 599).

Ces deux faits peuvent être reconnus dans les tubes nerveux dissociés, après que les nerfs ont séjourné vingt-quatre heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100.

Dans les mêmes préparations, on constate encore qu'autour de ces tubes, outre la membrane de Schwann qui se moule exactement sur la gaine de myéline et sur les étranglements annulaires, il y a une seconde gaine, formée d'une membrane mince, anhiste, possédant des noyaux à sa face profonde. Cette membrane, à laquelle j'ai donné le nom de *membrane secondaire*, ne correspond ni à la gaine de Henle ni au périnèvre de certains auteurs, puisque l'on ne peut donner ce dernier nom qu'à l'enveloppe des faisceaux nerveux ou des petits nerfs qui cheminent isolément au milieu des tissus. Elle se poursuit sur les tubes nerveux compris dans les lames électriques, et c'est pour cela qu'en ces points, au lieu de la désigner sous le nom de gaine de Henle, je lui ai réservé le nom de gaine secondaire.

La gaine secondaire des tubes nerveux compris dans les faisceaux des nerfs est une disposition commune à tous les plagiostomes ; elle est en rapport avec la structure du tissu conjonctif des troncs nerveux chez ces animaux. Le tissu conjonctif périfasciculaire, au lieu d'y être formé de faisceaux distincts comme chez les mammifères, y est constitué par des lames anastomosées les unes avec les autres (système de tentes); une gaine lamelleuse distincte enveloppe cependant chaque faisceau nerveux. On conçoit dès lors que, la disposition lamelleuse s'étendant également au tissu conjonctif intrafasciculaire, celui-ci ne soit plus représenté, chez les poissons dont nous nous occupons, que par la gaine secondaire dont s'enveloppe chaque tube nerveux.

Tous ces faits peuvent être reconnus avec la plus grande facilité dans des coupes transversales des nerfs électriques de la torpille, colorées par le picrocarminate ou par l'hématoxyline, alors qu'elles ont été faites sur un de ces nerfs, durci à l'état d'extension physiologique par un séjour d'une semaine dans une solution d'acide chromique à 2 pour 1000 et de vingt-quatre heures dans l'alcool.

Dans ces préparations, on remarquera également que tous les tubes nerveux qui entrent dans la composition d'un nerf électrique ont le même diamètre et qu'entre eux il n'existe pas de fibres de Remak. Dans les nerfs mixtes, au contraire, il y a des fibres de Remak en proportion variable, et les tubes nerveux présentent de grandes différences dans leur diamètre. Cette observation, contrôlée par l'examen des tubes nerveux isolés obtenus par dissociation après macération dans l'acide osmique, conduit à l'idée que l'unité de forme et de dimension de tous les tubes nerveux électriques correspond à leur unité fonctionnelle.

Des coupes transversales des nerfs électriques, pratiquées à différents

points de leur trajet, depuis leur sortie du crâne jusque dans les cloisons de l'organe électrique, montrent que, si les faisceaux qui entrent dans la composition de ces nerfs deviennent de plus en plus petits en se divisant et en se subdivisant, il n'en est pas de même des tubes qui les composent. Ceux-ci conservent le même diamètre dans toute leur longueur.

Mais, lorsqu'ils arrivent sur la gaine intime des prismes et qu'ils se disposent à la traverser, ils se divisent brusquement en un seul point, en donnant naissance à un grand nombre de tubes nerveux. Cette disposition a été observée pour la première fois par R. Wagner (*loc. cit.*) dans des lambeaux de l'organe électrique frais comprimés sur la lame de verre; c'est pour cela que je lui ai donné le nom de *bouquet de Wagner*[1].

Pour faire des préparations persistantes des bouquets de Wagner, il faut encore avoir recours aux injections interstitielles d'acide osmique. Quelques minutes après avoir pratiqué dans un organe électrique frais une de ces injections, on enlève à l'aide de quelques coups de ciseaux la cloison de séparation de deux prismes voisins et on la place dans l'eau distillée; pour ne pas être gêné plus tard dans l'observation par les lames électriques restées adhérentes à cette cloison, on en arrache le plus grand nombre en se servant de la pince et des aiguilles. La cloison ainsi préparée est placée sur la lame de verre, et l'on en fait un premier examen pour juger si la disposition des nerfs dans son intérieur est favorable; dans ce cas, on la recouvre d'une lamelle et l'on ajoute de la glycérine, qui doit pénétrer avec une extrême lenteur pour ne pas déterminer le ratatinement des tubes nerveux.

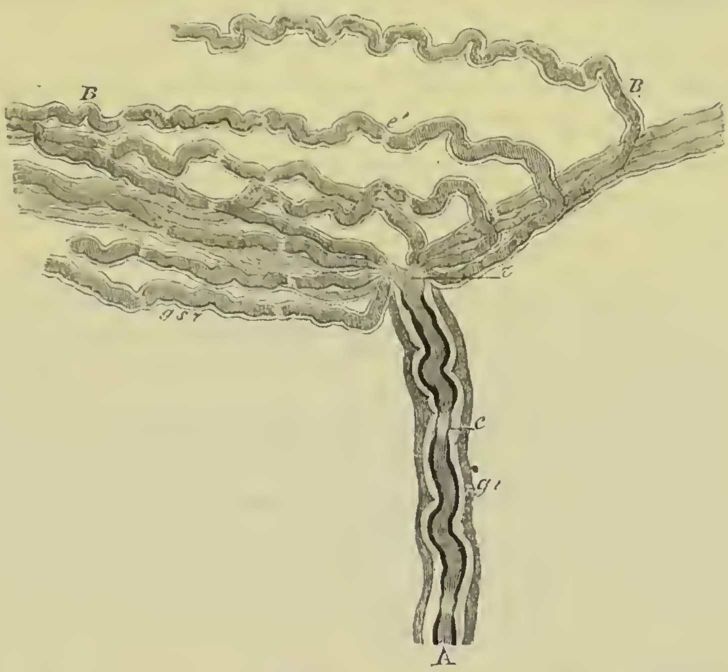


Fig. 284. — Bouquet de Wagner. — A, branche mère; *gl*, gaine lamelleuse ou stratifiée de cette dernière; *r*, renflement terminal de la branche mère; B, B, branches filles; *e*, étranglements annulaires de la branche mère; *e'*, étranglements annulaires des branches filles; *gsr*, membrane secondaire des branches filles. — 100 diam.

Il y a lieu de distinguer aux bouquets de Wagner une branche mère qui correspond au tube nerveux afférent et des branches filles qui en naissent. La branche mère est formée d'un tube nerveux dont le diamètre est relativement considérable, tandis que ses segments interannulaires sont très courts, et d'une gaine constituée par un très grand nombre de lamelles superposées.

1. Voy. *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. II, p. 181.

Elle se termine par un renflement volumineux qui correspond à un étranglement annulaire et sur lequel les branches filles prennent naissance. Dès leur origine, ces branches ont une structure semblable à celle des fibres nerveuses de premier ordre qui cheminent entre les lames électriques et qui ont été décrites précédemment ; une gaine secondaire simple les enveloppe.

Les vaisseaux sanguins de l'organe électrique sont peu nombreux, comme on peut déjà en juger par la couleur grise à peine rosée de l'organe. On en apprécie la disposition générale et même la structure dans des préparations faites à l'aide de plusieurs des méthodes qui ont été déjà indiquées. C'est ainsi que, sur des lames électriques isolées après l'action de l'acide osmique, on voit les vaisseaux ramper dans le tissu muqueux entre les fibres nerveuses de premier ordre, tantôt au-dessous, tantôt au-dessus de ces fibres. Ils présentent la structure élémentaire des capillaires, bien que leur calibre soit relativement considérable. C'est seulement dans la cloison des prismes qu'il existe des vaisseaux sanguins artériels et veineux.

Les lames électriques traitées par le nitrate d'argent montrent également bien les vaisseaux capillaires; leur endothélium est souvent alors nettement dessiné par l'argent (voy. p. 446).

Pour acquérir des notions plus complètes sur la richesse vasculaire de l'organe électrique et sur la disposition des vaisseaux dans son intérieur, il convient d'en faire des coupes après avoir injecté le système vasculaire de l'animal. Ces injections seront pratiquées par l'artère caudale avec du carmin ou du bleu de Prusse soluble additionné de gélatine. Lorsque la gélatine sera prise par le refroidissement, des fragments de l'organe seront détachés et durcis au moyen de l'alcool, ou mieux encore au moyen de la gomme et de l'alcool. Les coupes exécutées perpendiculairement ou parallèlement à l'axe des prismes, placées d'abord dans l'eau pour dissoudre la gomme, seront ensuite déshydratées par l'alcool, éclaircies par l'essence de térébenthine et montées dans la résine dammare.

Les artères et les veines accompagnent les nerfs et parcourent en se ramifiant les cloisons des prismes ; il s'en dégage des capillaires qui s'insinuent entre les lames, et qui, cheminant dans le tissu muqueux, continuent quelquefois leur trajet sans donner aucune ramification. Le plus souvent, au contraire, ils se divisent ou s'anastomosent, mais ils ne forment jamais un réseau qui soit comparable à celui des autres organes vasculaires.

Résumé des notions acquises sur la terminaison des nerfs électriques. — Laissant de côté ce qui est relatif au tissu conjonctif et à la gaine des nerfs, envisageons un tube nerveux électrique depuis son origine dans les centres jusqu'à sa terminaison dans une lame électrique. Ce tube, dont la partie essentielle, le cylindre-axe, correspond au prolongement de Deiters de l'une des nombreuses cellules qui composent le lobe électrique, se poursuit sans se diviser jusqu'à la gaine intime de l'un des prismes électriques; en ce point, tout d'un coup, au niveau d'un étranglement annulaire, il donne naissance à la fois à 12 ou 20 tubes nerveux. Chacun de ces nou-

veaux tubes possède un cylindre-axe qui résulte de la division du cylindre-axe du tube nerveux primitif, ce qui démontre que le prolongement de Deiters, indivis d'abord, peut cependant se diviser à la périphérie comme se divisent les prolongements protoplasmiques dans les centres.

Suivons maintenant un seul des tubes nerveux secondaires, car les autres ont un trajet et une terminaison absolument semblables. A une faible distance de son lieu d'origine, il s'insinue entre deux lames électriques, chemine dans le tissu muqueux qui les sépare, se divise et se subdivise; puis ses ramifications, perdant leur myéline, se divisent encore, abandonnent leur gaine secondaire en un point nettement déterminé (anneau terminal de la gaine secondaire), et, toujours accompagnées de leur gaine de Schwann, viennent se fixer à la face ventrale de la lame électrique supérieure. Dans leur trajet ultérieur, les ramifications nerveuses ne sont plus accompagnées par la gaine de Schwann; celle-ci, très probablement, les quitte au moment où elles entrent dans la lame électrique et s'épanouit sur la face inférieure de cette dernière en se confondant avec une membrane limitante qui la recouvre. Au delà, les fibres nerveuses, constituées par des cylindres-axes nus, se divisant et se subdivisant encore, forment une élégante arborisation dont les dernières branches se terminent par des boutons. De la face supérieure de ces branches se dégagent des filaments nerveux extrêmement grêles, légèrement renflés à leurs extrémités. Ces filaments, cils électriques, paraissent être les véritables terminaisons des nerfs électriques; ils flottent dans une substance liquide ou semi-liquide qui constitue la couche intermédiaire de la lame électrique, tandis que, supérieurement, cette lame est limitée par une lamelle anhiste extrêmement mince, lamelle dorsale.

La terminaison des nerfs dans l'organe électrique se fait donc par des extrémités libres; c'est là un fait qui semble définitivement acquis à la science, et dont la connaissance doit guider l'histologie dans l'étude des terminaisons motrices en général.

TERMINAISON DES NERFS DANS LES MUSCLES

Les terminaisons nerveuses motrices ne sont pas les mêmes dans les muscles striés ordinaires, dans le muscle cardiaque et dans les muscles lisses. Dès lors il y a lieu de les étudier dans trois paragraphes distincts.

Terminaison des nerfs dans les muscles striés ordinaires. — Chez un même vertébré, les nerfs paraissent se terminer dans tous les muscles volontaires d'une manière analogue. Mais, si l'on envisage l'ensemble des vertébrés, on voit que le mode de terminaison des nerfs dans ces muscles n'est pas le même chez tous. Il diffère encore chez les arthropodes, de telle sorte qu'il y a lieu de considérer, dans les muscles striés volontaires, au moins trois formes principales de terminaisons nerveuses : les éminences ou collines de Doyère qui se montrent chez les articulés, les buissons terminaux ou buissons de Kühne qui paraissent spéciaux aux batraciens anoures et les

éminences nerveuses terminales ou plaques motrices que l'on observe chez les mammifères, les oiseaux, les poissons et les reptiles.

Cette classification est celle que l'on peut faire dans l'état actuel de la science ; mais la terminaison des nerfs dans les muscles n'a pas encore été étudiée chez un assez grand nombre d'animaux pour que l'on puisse affirmer qu'il n'en existe pas d'autres formes, tout à fait différentes de celles qui sont connues aujourd'hui ou bien au contraire leur étant intermédiaires et diminuant par conséquent la distance qui les sépare. En outre, l'organe nerveux terminal que l'on observe dans les faisceaux des muscles striés volontaires existe dans certains muscles qui, bien que striés, ne sont pas soumis à l'influence de la volonté, par exemple la tunique contractile de l'œsophage des mammifères et les cœurs lymphatiques des reptiles et des batraciens. Il convient donc de réunir dans une même étude les terminaisons motrices de ces organes et celles des muscles volontaires.

Éminences de Doyère. — Doyère, dans un travail important sur les Tardigrades, décrivit, pour la première fois, les rapports des nerfs avec les faisceaux musculaires. Il put déterminer que les fibres nerveuses se terminent sur ces faisceaux par des sortes d'éminences ou de collines qui portent aujourd'hui le nom d'éminences de Doyère[1].

On peut observer les faits découverts par Doyère ou des faits analogues chez la plupart des articulés, mais pour les étudier il convient de choisir l'hydrophile, parce qu'on se procure ces insectes en toute saison et que l'on en conserve habituellement quelques-uns dans les laboratoires.

Leurs nerfs sont constitués par une ou plusieurs fibres nerveuses sans myéline, qui sont elles-mêmes composées d'un certain nombre de fibrilles groupées en faisceau et enveloppées d'une gaine commune. Pour apprécier la manière dont ils se terminent dans les muscles, il convient de faire une première expérience. L'animal étant complètement essuyé, on lui arrache une des pattes postérieures. Il s'écoule de la plaie que l'on a produite ainsi une ou deux gouttes de lymphe que l'on recueille sur une lame de verre. On ouvre alors à l'aide des ciseaux la carapace du premier article de la patte arrachée, et les fibres musculaires qu'elle contient, détachées avec soin, sont portées dans le liquide qui a été recueilli. On les y dissocie avec les aiguilles, on les recouvre d'une lamelle, et la préparation est prête pour l'examen. Elle contient un grand nombre de faisceaux primitifs vivants qui montrent d'abord des ondes de contraction plus ou moins marquées ; mais au bout de peu de temps les mouvements ondulatoires s'arrêtent dans la plupart d'entre eux. On y voit arriver des trachées et des nerfs. On reconnaît sans peine les premières à leurs fibres spirales et à l'air qu'elles contiennent et qui les fait paraître noires. Quant aux nerfs, ils sont caractérisés à un

1. « Au moment d'arriver sur le muscle, le nerf s'épanouit et prend l'aspect d'une substance gluante ou visqueuse qui serait coulée sur le muscle, l'envelopperait dans certains cas, le plus souvent s'étendrait sur une de ses faces en couche de plus en plus mince, et dans une proportion considérable de sa longueur et peut-être même dans sa longueur tout entière. » *Doyère.* Mémoire sur les Tardigrades (*Annales des Sciences naturelles*, 1840, t. XIV, p. 346)

fort grossissement par leur striation longitudinale et leur gaine enveloppante. Ils viennent aboutir sur les faisceaux musculaires à des éminences formées d'une substance granuleuse dans laquelle ils semblent se perdre. Chaque faisceau reçoit plusieurs fibres nerveuses qui viennent s'unir à lui sur différents points de sa surface.

Si l'on examine une éminence terminale se présentant de profil sur le bord d'un faisceau musculaire, on voit la fibre nerveuse qui s'y termine s'élargir et sa gaine se confondre avec le sarcolemme, tandis que sa partie cylindraxile se décompose en ses fibrilles constitutives. Celles-ci s'écartent les unes des autres et se répondent dans un cône de matière granuleuse. On peut les suivre jusqu'à la base de ce cône, mais il n'est pas possible de les distinguer au delà [1].

A la base de l'éminence, il existe assez souvent, comme Kühne [2] et Margo [3] l'ont indiqué, des noyaux en assez grande abondance. Leur nombre n'est pas constant, et il y a même des terminaisons nerveuses motrices au niveau desquelles on n'en observe aucun.

Comme les noyaux des éminences de Doyère ne se voient d'ordinaire que d'une manière indistincte dans les fibres musculaires examinées à l'état vivant ou même après leur mort quand on ne les a soumises à l'action d'aucun réactif, il convient, pour s'assurer de leur nombre et de leur siège, d'avoir recours à la méthode suivante : le premier article de l'une des pattes de l'insecte étant complètement séparé, on le plonge dans l'alcool ou bien on y pratique une injection interstitielle du même réactif; lorsque les faisceaux musculaires ont été fixés, on les dégage dans l'eau au moyen des ciseaux, des pinces et des aiguilles, on les colore par le picrocarminate et, après les avoir lavés de nouveau, on les monte en préparation dans la glycérine additionnée d'acide formique.

Buissons de Kühne. — Parmi les muscles de la grenouille, ceux dans lesquels les histologistes ont surtout recherché la terminaison des nerfs sont le peaucier thoracique, les hyoïdiens et le gastrocnémien.

Le peaucier thoracique, qui a été choisi par Reichert, est un excellent objet pour étudier la ramification des nerfs moteurs et la division des tubes nerveux qui les composent. Ce muscle s'insère sur le sternum et se dirige obliquement d'arrière en avant et de bas en haut pour aller se fixer à la peau. Le peaucier gauche est réuni à celui du côté droit par une membrane aponévrotique extrêmement mince, et leur ensemble forme une cloison qui sépare la cavité connective sous-hyoïdienne du sac lymphatique abdominal antérieur.

1. Ce sont là les conclusions auxquelles j'étais arrivé (*Leçons sur l'histologie du système nerveux*, t. II, p. 277) en examinant les terminaisons nerveuses des muscles des pattes de l'hydrophile. Plus récemment, Foettinger (*Sur les terminaisons des nerfs dans les muscles des insectes*, in *Archives de Biologie*, t. I, 1880, p. 278) a soutenu que, chez cet insecte et chez d'autres, les fibres nerveuses que l'on voit dans l'éminence de Doyère atteignent toutes les disques minces, et se continuent avec eux. Je n'ai pas pu constater ce fait, bien que je me sois placé dans les meilleures conditions pour l'observer.

2. *Kühne*, Ueber die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig, 1862.

3. *Margo*, Ueber die Endigung der Nerven in der quergestreiften Muskelsubstanz. 1862.

Pour préparer le muscle peaucier thoracique, voici comment il faut procéder : la grenouille, immobilisée au moyen du curare ou du chloroforme, est étendue sur une lame de liège où elle est fixée, la face ventrale en haut, par des épingles implantées dans ses quatre membres et dans son museau. On pratique alors à la peau une incision médiane et longitudinale depuis la symphyse de la mâchoire inférieure jusqu'à la partie moyenne de l'abdomen. A ce niveau, on fait une seconde incision transversale atteignant la ligne latérale, puis une troisième remontant vers le creux de l'aisselle, de manière à limiter un lambeau en forme de volet. Si l'on saisit avec une pince l'extrémité de ce lambeau et qu'on le relève, on est arrêté par l'insertion supérieure ou cutanée du muscle peaucier thoracique. En tirant sur la peau en même temps qu'on la soulève, on tend le muscle et on le fait apparaître dans son entier. Il est dès lors facile de le dégager de ses insertions et de l'isoler complètement, ce qu'il faut faire avec soin, surtout lorsque l'on arrive à son bord externe, parce que c'est à ce niveau que pénètre le rameau nerveux qui s'y distribue. Le muscle est ensuite étalé sur une lame de verre sur laquelle on doit l'appliquer par sa face antérieure, car c'est à sa face postérieure que le nerf arrive, et c'est sur elle qu'il se ramifie.

On peut examiner ce muscle à l'état vivant et sans addition d'aucun réactif. Pour cela, il suffit de le recouvrir d'une lamelle que l'on borde à la paraffine. On peut aussi le traiter par l'acide acétique dilué (1 pour 100, par exemple) ou par une solution de potasse à 10 pour 100. Dans ces préparations, on voit le nerf, ses ramifications, les tubes nerveux qui le constituent et les divisions et subdivisions qu'il montre en se distribuant dans l'intérieur du muscle.

Mais, de toutes les méthodes, celle qui convient le mieux pour suivre les fibres nerveuses à myéline dans leur trajet consiste à faire arriver de l'acide osmique sur la face postérieure du muscle en place et convenablement tendu. Pour cela, la grenouille étant fixée comme il a été dit plus haut et le muscle peaucier thoracique ayant été mis à découvert, on introduit au-dessous de lui la canule en or d'une seringue hypodermique contenant une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Lorsque l'on a injecté quelques gouttes de cette solution et que l'on a attendu une ou deux minutes, le muscle est généralement fixé. On l'enlève alors sans difficulté aucune, puis on le place sur une lame de verre la face postérieure en haut, on le recouvre d'une lamelle et on l'examine à un grossissement de 150 à 200 diamètres.

Les faisceaux musculaires y sont parfaitement nets et montrent leur double striation très régulière. Ils sont légèrement jaunâtres, tandis que les tubes nerveux, colorés en gris bleuâtre plus ou moins foncé, sont bien distincts et peuvent être suivis dans tout leur trajet.

Le muscle peaucier ne possède qu'un seul nerf, composé d'une douzaine environ de tubes nerveux. Ces tubes, dont quelques-uns se divisent déjà dans le tronc nerveux lui-même, présentent ensuite des divisions fréquentes. Ces divisions se font toujours au niveau d'un étranglement annulaire. Tantôt un tube nerveux se divise pour former deux tubes à peu près égaux, tantôt il donne naissance à un tube beaucoup plus grêle qui s'en dégage perpendicu-

lairement ou plus ou moins obliquement; tantôt enfin il émet à la fois, toujours au niveau d'un étranglement, trois ou même quatre nouveaux tubes.

A son entrée dans le muscle peaucier thoracique, le nerf est enveloppé d'une gaine lamelleuse qui se divise et se subdivise pour fournir des gaines spéciales à toutes ses ramifications et finalement se poursuivre, sur les tubes nerveux qui cheminent isolément, sous la forme d'une simple membrane tubulaire, gaine de Henle (voy. p. 576 et suiv.). Chacun de ces tubes, enveloppé ainsi d'une double gaine membraneuse, la gaine de Henle et la gaine de Schwann, se rend à un faisceau musculaire sur lequel il paraît se terminer brusquement. Au delà on ne distingue rien.

Pour aller plus loin dans l'étude des terminaisons nerveuses, il faut avoir recours à d'autres modes de préparation. En effet, si l'acide osmique est un réactif excellent pour dessiner les tubes nerveux à myéline, il ne convient pas toujours pour reconnaître les fibres nerveuses qui ne sont pas entourées d'une gaine médullaire. En outre, si le muscle peaucier thoracique est le muscle strié le plus mince que l'on puisse rencontrer chez la grenouille, il est encore composé de plusieurs couches de faisceaux musculaires dont l'image pleine de détails complique celle des terminaisons nerveuses et empêche de la bien distinguer. Il convient donc, comme l'a fait Kühne il y a déjà longtemps, d'étudier ces terminaisons sur des faisceaux musculaires complètement isolés [1], et pour cela de choisir, comme il l'a conseillé, le gastrocnémien de la grenouille. Les fibres de ce muscle, qui viennent s'attacher à une cloison tendineuse médiane, peuvent être facilement extraites dans toute leur longueur; elles sont assez courtes pour qu'il soit aisé de les examiner dans leur étendue tout entière et de constater ainsi que chacune possède une terminaison nerveuse.

Pour les détacher du muscle et pour les isoler complètement, il faut, après avoir sacrifié la grenouille, en lui détruisant la moelle épinière par exemple, l'écorcher, couper un des tendons d'Achille que l'on saisit entre le pouce et l'index et séparer par une légère traction le muscle gastrocnémien en le laissant encore en rapport avec l'animal par ses insertions supérieures. Le corps du muscle reposant sur l'index par sa face postérieure, le poids de la grenouille le tend d'une façon suffisante pour qu'il montre sa face profonde avec tous ses détails. On y voit la cloison médiane et les fibres musculaires qui sont disposées des deux côtés comme les barbes d'une plume. Au moyen de ciseaux fins et bien tranchants, on enlève d'abord d'un côté les faisceaux les plus superficiels et l'aponévrose qui les recouvre, puis d'un second coup on détache franchement quelques faisceaux musculaires en nombre aussi restreint que possible et on les porte sur une lame de verre disposée d'avance à cet effet; on les dissocie avec des aiguilles sans addition d'aucun liquide ou bien dans une goutte de sérum du sang ou d'humeur aqueuse, puis on les recouvre d'une lamelle que l'on borde à la paraffine.

Dans cette opération, la manière dont on détache les faisceaux muscu-

1. *Kühne*, Ueber die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig, 1862.

laires a une certaine importance, car il faut non seulement les isoler, mais encore enlever avec eux sans trop les déplacer et sans les altérer les fibres nerveuses qui s'y rendent. Or, en agissant avec les ciseaux de manière à ne séparer qu'un très petit nombre de faisceaux musculaires, on coupe à une petite distance de leur terminaison les fibres nerveuses qui leur sont destinées, de telle sorte que, lorsqu'on vient ensuite à les dissocier au moyen des aiguilles, chacun de ces faisceaux s'isole avec son nerf sans que celui-ci ait été tiraillé, ce qui n'arriverait pas si, comme on l'a conseillé, on les arrachait un à un ou par petits groupes au moyen d'une pince.

Dans les préparations obtenues par cette méthode, on peut déjà reconnaître que chaque tube nerveux à myéline arrivé sur un faisceau musculaire se divise et se subdivise, rampe à sa surface et y forme un buisson qui semble se terminer par des fibres pâles plus ou moins longues, parallèles à l'axe du faisceau et sur lesquelles sont disposés des corpuscules semblables à des noyaux. C'est là le buisson de Kühne.

Le tube nerveux afférent et les premières branches du buisson qui sont pourvues d'une gaine médullaire sont parfaitement nets, mais il n'en est pas de même des rameaux ultimes qui sont dépourvus de myéline. Ils ne se montrent que d'une manière extrêmement vague, et ils échapperaient sans doute à l'observateur qui n'aurait pas encore acquis à leur sujet des renseignements fournis par d'autres méthodes.

Parmi ces méthodes, il faut choisir d'abord l'imprégnation d'argent, qui a été appliquée pour la première fois par Cohnheim à l'étude des terminaisons motrices[1]. Voici comment on doit procéder : après avoir placé dans des verres de montre distincts une solution de nitrate d'argent à 2 ou 5 pour 1000, une solution d'acide acétique à 1 pour 100 et de l'eau distillée, on recueille dans un quatrième verre de montre le sang d'une grenouille s'écoulant du cœur mis à nu et dont on a réséqué la pointe. Lorsque le coagulum sanguin, en revenant sur lui-même, a abandonné une quantité suffisante de sérum, on achève la grenouille, en lui détruisant la moelle épinière, et on détache de l'un de ses gastrocnémiens quelques faisceaux musculaires en suivant exactement les indications qui ont été données un peu plus haut. Ces faisceaux, placés sur une lame de verre dans une goutte de sérum du sang, doivent être dissociés avec beaucoup de soin, de manière à les isoler complètement les uns des autres. On les examine alors à un faible grossissement pour reconnaître ceux qui possèdent des terminaisons nerveuses et les porter dans le verre de montre qui contient la solution de nitrate d'argent. Au bout de dix à vingt secondes, on les en sort et, les ayant placés dans l'eau distillée, on les expose à la lumière du jour et, si c'est possible, directement au soleil. Lorsqu'ils sont devenus bruns ou noirs, on les porte dans l'acide acétique. Ratatinés d'abord sous l'influence du nitrate d'argent, ils se gonflent peu à peu dans la solution acide. Dès qu'ils ont repris leur dimension première, on

1. Cohnheim, *Centralblatt*, 1865, n° 55, et *Ueber die Endigung der Muskelnerven* (*Archives de Virchow*, 1865, t. XXXIV, p. 194).

les en retire et on les met sur une lame de verre dans une goutte d'un mélange à parties égales d'eau et de glycérine.

Les faisceaux musculaires colorés en brun montrent une striation transversale simple et serrée comme ils la présentent en général quand ils sont revenus sur eux-mêmes. Tout le buisson terminal est ménagé en blanc ; le dessin en est très pur lorsque le nerf afférent est resté flottant sur le côté du faisceau musculaire pendant le traitement à l'argent. En revanche, si, comme il arrive le plus souvent, il s'est trouvé appliqué sur le sarcolemme, l'endroit qu'il occupait est marqué par une bande ou un îlot blanc qui complique ou déforme l'image (voy. fig. 285). Les rameaux terminaux apparaissent sous la forme de prolongements plus ou moins longs, rectilignes ou légèrement sinueux, arrondis ou effilés à leurs extrémités, et sur lesquels se voit le plus souvent un renflement ovalaire également ménagé par l'argent et qui correspond à un noyau.

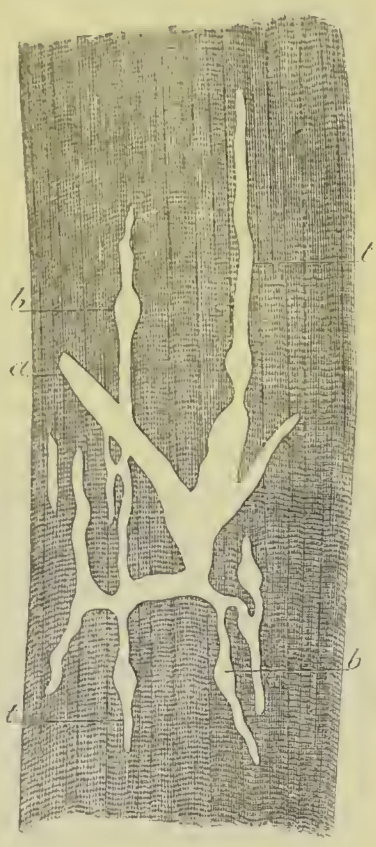


Fig. 285. — Faisceau musculaire du gastrocnémien de la grenouille verte, traité par le nitrate d'argent, suivant le procédé de Cohnheim. — *a*, dessin de la branche mère, flottant à la surface externe du sarcolemme ; *b*, image des noyaux situés sur les tiges terminales, *t*.

Il convient d'ajouter qu'en dehors de l'image réservée en blanc appartenant au buisson de Kühne, il y a, en différents points de la surface des faisceaux, des taches blanches, allongées, le plus souvent fusiformes, qui correspondent à des noyaux musculaires situés superficiellement.

Les images du buisson de Kühne obtenues au moyen de cette méthode sont des images négatives. Sous l'influence de la lumière, le nitrate d'argent s'est réduit sur toute la surface de la substance striée, excepté dans les points où cette substance est recouverte par les diverses parties du buisson terminal. Ces parties, tout en protégeant la substance musculaire, ne se colorent pas elles-mêmes ; elles se trouvent ainsi réservées en blanc sur fond coloré.

Tandis que l'argent fournit des images négatives, l'or donne des images positives, c'est-à-dire qu'au lieu de ménager les branches du buisson, il les colore en violet plus ou moins foncé.

Le procédé qui réussit le mieux parmi ceux qui ont été recommandés jusqu'à présent est celui de Löwit[1], que Fischer[2] a employé le premier pour la recherche des terminaisons nerveuses dans les muscles volontaires. Pour l'appliquer, il faut se pourvoir d'acide formique et d'une solution de chlorure

1. *Löwit*, Die Nerven der glatten Muskulatur (*Acad. des Sciences de Vienne*, t. LXXI, 22 avril 1875).

2. *Fischer*, Ueber die Endigung der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbelthiere (*Arch. f. micr. Anat.*, 1876, t. XIII, p. 365).

d'or à 1 pour 100. On commence par préparer une solution d'acide formique au tiers (acide formique 1, eau distillée 2). On en met quelques centimètres cubes dans un verre de montre, puis, enlevant des fragments du muscle gastrocnémien ayant 1 ou 2 millimètres d'épaisseur en suivant les indications qui ont été données plus haut (voy. p. 617), on les place dans ce mélange. Lorsqu'ils sont devenus transparents, ce qui se produit au bout d'une demi-minute à une minute, on les porte dans un second verre de montre contenant 1 ou 2 centimètres cubes de la solution de chlorure d'or. On les y laisse dix à quinze minutes jusqu'à ce qu'ils soient devenus jaunes dans toute leur masse. Ils en sont alors retirés et placés dans une petite quantité d'acide formique au tiers, où ils sont conservés dans un endroit complètement obscur pendant vingt-quatre heures; puis on les met pendant vingt-quatre heures encore dans de l'acide formique pur, en les maintenant également à l'obscurité.

Lorsqu'ils ont subi l'action de ces différents réactifs, les fragments de muscles sont portés dans l'eau distillée. Le plus souvent ils ont été diversement modifiés dans leurs différentes couches : leur surface a pris une teinte gris jaunâtre sale, tandis que leur centre présente une coloration violette. Cette coloration de la partie centrale fait présager un résultat heureux, car c'est précisément à sa limite que se trouvent les fibres musculaires les plus convenables pour l'étude. Après avoir enlevé au moyen de ciseaux fins la couche superficielle, on détache, sous l'eau distillée et en s'aidant surtout de la pince et des ciseaux, les faisceaux musculaires qui se trouvent à la limite des deux couches ou qui sont compris à la fois dans la portion grise et dans la portion violette. On reconnaît que l'on a réussi lorsque, à un faible grossissement, on distingue des buissons de Kühne dont les différentes branches, d'un violet plus ou moins foncé, se détachent de la substance musculaire incolore ou colorée en lilas. Si l'on n'en rencontre pas, il faut faire une nouvelle préparation.

Il est deux autres procédés qui donnent encore de meilleurs résultats. Le premier consiste à placer les fragments de muscle pendant cinq à dix minutes dans du jus de citron fraîchement exprimé et filtré sur de la flanelle. Ils y deviennent transparents. On les lave rapidement dans de l'eau distillée, puis on les porte dans une solution de chlorure d'or à 1 pour 100, où on les laisse séjourner vingt minutes en moyenne, après quoi on les lave de nouveau dans l'eau distillée, et on les place dans un flacon contenant 50 grammes d'eau distillée et deux gouttes d'acide acétique. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures et sous l'influence de la lumière, la réduction de l'or est produite, et pour achever la préparation, on opère comme il a été dit déjà.

L'inconvénient de ce procédé consiste surtout en ce que, la réduction de l'or n'étant pas complète au moment où on exécute la préparation, celle-ci se colore de plus en plus par la suite et peut devenir tellement foncée que l'on ne distingue plus nettement les buissons terminaux. Aussi, pour rendre les préparations permanentes, convient-il de combiner ce procédé avec celui de Löwit. Pour cela, après le traitement successif des fragments de muscle par le jus de citron et le chlorure d'or, on les place dans quelques centimètres

cubes d'une solution d'acide formique au quart, à l'abri de la lumière. Le lendemain, la réduction est complète, et les faisceaux musculaires convenablement dissociés et conservés dans de la glycérine pure ou mieux encore dans de la glycérine additionnée d'acide formique, fournissent des préparations persistantes, dans lesquelles les éléments délicats du buisson de Kühne sont beaucoup mieux ménagés que si l'on a employé simplement le procédé de Löwit.

Dans les préparations obtenues au moyen de l'un ou de l'autre de ces procédés, on constate qu'il existe à la surface des faisceaux musculaires des buissons semblables à ceux que manifeste le nitrate d'argent, avec cette différence qu'au lieu d'être ménagées en blanc, leurs branches sont colorées en violet foncé. La fibre nerveuse afférente, ses ramifications et ses branches terminales se poursuivent sans qu'il y ait entre elles la moindre discontinuité. Les branches terminales finissent par une extrémité arrondie ou légèrement effilée parfaitement nette, et il ne s'en dégage pas de fibres qui, se continuant dans l'épaisseur du faisceau musculaire, y formeraient un réseau[1].

Dans les préparations faites par le procédé de Löwit, les noyaux du buisson de Kühne ne sont pas distincts, mais on peut les rendre apparents en traitant

1. Gerlach, dans deux mémoires successifs (*Das Verhaeltniss der Nerven zu den willkürlichen Muskeln der Wirbelthiere*. Sitzungsberichte der phys. med. Societät zu Erlangen, 1873, p. 97, et *Ueber das Verhaeltniss der nervoesen und contractilen Substanz des quergestreiften Muskels*, in *Arch. f. micr. Anat.*, 1876, t. XIII, p. 399), a soutenu que le buisson de Kühne ne constitue pas un appareil nerveux terminal. Des derniers rameaux de ce buisson partiraient des fibres qui se répandraient dans la substance musculaire et y formeraient un réseau ou un plexus à mailles serrées dans lesquelles seraient compris les derniers éléments contractiles. La méthode à l'aide de laquelle il dit avoir obtenu ce résultat diffère de celles que je viens d'indiquer. Elle consiste à recueillir de petits fragments de muscle un peu avant la rigidité cadavérique chez une grenouille que l'on a tuée en lui frappant violemment la tête, et à les plonger pendant douze heures dans un liquide contenant une partie de chlorure double d'or et de potassium et une partie d'acide chlorhydrique pour 10 000 parties d'eau. Les muscles sont dissociés dans l'eau additionnée d'une faible quantité d'acide chlorhydrique et montés en préparation dans un mélange de glycérine et de gomme arabique, dans lequel s'achève la réduction de l'or.

D'après Gerlach lui-même, ce procédé réussit très rarement, mais lorsqu'il a été suivi de succès, le réseau nerveux nettement dessiné que l'auteur a désigné sous le nom de réseau ou de plexus intravaginal apparaîtrait tellement riche, qu'il occuperait toutes les parties du faisceau musculaire qui, à la lumière polarisée, se montrent monoréfringentes (voy. p. 579).

D'après cela, la substance nerveuse et la substance musculaire seraient intimement mélangées, et l'on pourrait considérer le faisceau strié comme un prolongement contractile de la cellule nerveuse. Cette conception paraît avoir été inspirée par la connaissance de la cellule neuro-musculaire de l'hydre d'eau douce découverte par Kleinenberg, cellule qui, par son corps muni d'un noyau, remplit les fonctions d'une cellule épidermique et nerveuse, tandis que par ses prolongements elle concourt à la formation de la couche contractile du mésoderme (voir *Leçons sur l'Histologie du système nerveux*, t. I, p. 11).

La théorie de Gerlach est séduisante, et si aujourd'hui la plupart des histologistes ont été conduits à la laisser de côté, c'est que d'autres procédés leur ont permis d'observer d'une manière absolument nette la terminaison des branches du buisson de Kühne.

Cependant, on peut avoir facilement des images semblables à celles que Gerlach a obtenues. Avec n'importe lequel des procédés de la méthode de l'or que j'ai indiqués, on les observera dans un certain nombre de faisceaux musculaires, soit qu'ils se présentent couchés dans le champ du microscope, soit que, ayant été fragmentés, ils se montrent comme dans une coupe transversale. Dans les premiers, on distingue des séries de granulations violettes, plus ou moins foncées qui les partagent en bandes parallèles; entre ces traînées principales se remarquent des lignes plus fines également colorées en violet. Dans les seconds, on observe l'image dite des champs de Cohnheim (voy. p. 590) : la tranche du faisceau musculaire paraît divisée en une série de champs incolores par une substance

les faisceaux musculaires convenablement dorés et débarrassés de tout acide au moyen d'un lavage prolongé, par le picrocarminate d'abord et ensuite par l'acide formique. Ils sont alors colorés en rouge, tandis que les branches du buisson sont restées violettes.

Lorsque, avant de soumettre les fragments musculaires à l'action du chlorure d'or, on les a traités par le jus de citron et que la réduction a été obtenue dans l'eau légèrement acétifiée et sous l'influence de la lumière, il arrive parfois, comme l'a indiqué Tschiriew[1], que les noyaux ont une teinte violette, mais plus claire que celle des branches du buisson. On distingue alors ceux qui appartiennent au tube nerveux afférent et à ses premières ramifications munies encore d'une gaine médullaire, de ceux des branches du buisson qui sont dépourvues de myéline. Celles-ci se montrent, comme il a déjà été dit, sous la forme de tiges rectilignes ou légèrement sinueuses, parallèles à l'axe du faisceau, et que j'ai désignées sous le nom de *tiges terminales*. En général, chacune des tiges terminales possède un noyau. Ce noyau, qui est situé toujours à une certaine distance de son extrémité, est appliqué à sa surface et la recouvre complètement. Il faut noter cependant que, dans les préparations obtenues au moyen du procédé de Löwit, les tiges terminales sont amincies, revenues sur elles-mêmes, et que leurs noyaux, lorsqu'on les a colorés par le carmin, se montrent, non à leur surface, mais sur leurs côtés.



Fig. 286. — Buisson terminal d'un faisceau musculaire du gastrocnémien de la grenouille verte, traité par le procédé de Löwit. — *a*, branche mère du buisson; *s*, sa gaine de Henle; *t*, tiges terminales.

intermédiaire colorée en violet plus ou moins foncé. En certains points, ceux où trois champs au moins se rencontrent, se voit une tache plus foncée. C'est exactement ce que Gerlach a figuré dans son second mémoire et qu'il a considéré comme le réseau ou le plexus nerveux intra-vaginal. En réalité, les traînées longitudinales correspondent à des lames protoplasmiques et à des séries linéaires de granulations graisseuses, disposées régulièrement entre les cylindres primitifs de Leydig. Les lignes violettes plus fines qui leur sont parallèles représentent des cloisons protoplasmiques plus minces. Le plexus intra-vaginal de Gerlach paraît donc être tout simplement le réseau protoplasmique du faisceau primitif plus ou moins chargé de granulations graisseuses.

1. *Tschiriew*, Sur les terminaisons nerveuses dans les muscles striés (*Archives de physiologie*, t. V, pl. I, fig. 2).

Lorsqu'un buisson de Kühne se présente de profil et que son nerf afférent flotte librement dans le liquide additionnel de la préparation (*a*, fig. 286), on peut apercevoir la gaine de Henle qui l'entoure et la voir se diviser pour se poursuivre sur les premières branches du buisson, lesquelles sont bien manifestement situées au-dessus du sarcolemme. Mais l'examen le plus attentif ne permet pas de distinguer quels sont les points au niveau desquels les fibres nerveuses traversent l'enveloppe du faisceau musculaire pour se mettre en rapport plus intime avec la substance striée.

Pour arriver à la solution de ce problème, il faut examiner des faisceaux du gastrocnémien de la grenouille, isolés par arrachement après injection dans le muscle d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Certains de ces faisceaux montrent de la manière la plus nette la fibre afférente et toutes les branches du buisson de Kühne; d'autres ne portent appendus que des fragments de fibres à myéline, enfin un grand nombre en sont totalement dépourvus. Cette observation suffit à montrer que toutes les fibres à myéline sont en dehors du sarcolemme, puisqu'elles peuvent être détachées des faisceaux musculaires par arrachement. Les autres sont bien certainement situées au-dessous de cette membrane, car on ne les distingue jamais en dehors de la limite du faisceau musculaire, même lorsque le buisson terminal se présente de profil.

L'acide osmique ne manifeste ni les tiges terminales du buisson de Kühne, ni les noyaux de ces tiges. Après l'action de ce réactif, il faut, pour voir les noyaux et apercevoir quelque chose des tiges terminales, employer la méthode suivante : On mélange dans une seringue hypodermique, après les y avoir aspirées successivement, 1 partie d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et 4 parties d'alcool ordinaire, et on les fait pénétrer dans le gastrocnémien par injection interstitielle. Les faisceaux musculaires sont ensuite dissociés dans l'eau distillée, colorés au moyen du picrocarminate d'ammoniaque à 1 pour 100, lavés et traités par un mélange à parties égales d'eau et d'acide acétique cristallisable. Sous l'influence de cet acide, les faisceaux musculaires se gonflent, les noyaux prennent une coloration plus franche et les tiges terminales qui ont été fixées par l'acide osmique se montrent parfois avec une teinte gris rosé. Dans tous les cas, les tubes nerveux et les premières branches du buisson de Kühne sont nettement dessinés, et l'on voit toujours dans la direction des tiges terminales leurs noyaux bien marqués, caractérisés par leur forme ovalaire.

Si, après avoir étudié le buisson terminal à l'aide de ces diverses méthodes, on revient à l'examen des terminaisons motrices de la grenouille à l'état vivant pour ainsi dire, et sans aucun réactif, on apercevra, mais sans les distinguer d'une manière bien nette, les différentes parties qui composent ce buisson, au moins dans les faisceaux les plus superficiels et surtout lorsqu'il en occupe la face supérieure. Les tiges terminales qui donnent une image assez vague, s'y montrent tout à fait droites. Quand, après avoir bien mis au

point, on éloigne légèrement l'objectif, elles deviennent obscures; quand on le rapproche de manière à dépasser de très peu le point de la vision distincte, elles sont à peine brillantes et se confondent même avec la masse qui les entoure, d'où l'on doit conclure que leur indice de réfraction est un peu inférieur à celui de la substance dans laquelle elles sont plongées. Leurs noyaux deviennent au contraire brillants lorsque l'on éloigne l'objectif. Ils masquent les tiges terminales quand elles sont situées à la face supérieure du faisceau que l'on examine.

Lorsque, après avoir disposé convenablement des faisceaux musculaires vivants sur une lame de verre, on les recouvre d'une lamelle en les comprimant légèrement, et qu'on y ajoute une goutte d'alcool au tiers ou d'acide acétique faible, au fur et à mesure que le liquide pénètre, les tiges terminales deviennent plus distinctes, leur contour apparaît nettement, et, lorsque l'on éloigne un peu l'objectif après l'avoir mis exactement au point, elles paraissent limitées par une bordure claire. Les noyaux de ces tiges prennent un contour plus accusé et leur contenu est granuleux.

Plaques motrices. — La terminaison des nerfs dans les muscles striés ordinaires des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères diffère à plusieurs égards de celle que l'on observe chez les batraciens.

Il convient de l'étudier d'abord chez les lézards (*Lacerta muralis*, *L. viridis*, *L. stirpium*), parce que la préparation en est plus facile et qu'elle se montre avec une bien plus grande évidence que chez les autres animaux[1].

1. Rouget (*Note sur la terminaison des nerfs moteurs dans les muscles, chez les reptiles, les oiseaux et les mammifères.* Comptes rendus de l'Académie des sciences, 28 septembre 1862) fut le premier qui, en examinant la terminaison des nerfs dans les muscles volontaires du lézard, remarqua que les fibres nerveuses se terminent sur les faisceaux musculaires en formant à leur surface une petite éminence granuleuse. Rouget considéra cette masse granuleuse, qu'il vit située au-dessous du sarcolemme, comme constituée essentiellement par le cylindre axe renflé à son extrémité, et il la désigna sous le nom de plaque motrice. Dans cette plaque, il y aurait en outre des noyaux qui seraient les analogues de ceux de la gaine du nerf. Rouget retrouva la même disposition chez les oiseaux et chez les mammifères, et il en conclut que, chez les vertébrés en général, la fibre nerveuse se termine sur le faisceau musculaire par une plaque qui doit être considérée comme l'épanouissement ultime du cylindre-axe.

Un an plus tard, Krause (*Ueber die Endigung der Muskelnerven*, in *Arch. f. rat. Med.*, 1863, t. XVIII, p. 136), en étudiant la terminaison des nerfs dans le muscle rétracteur du globe oculaire du chat, reconnut l'existence des plaques motrices signalées par Rouget. Sa description diffère cependant en plusieurs points de celle de cet auteur. La plaque motrice ne serait pas située sous le sarcolemme: elle en occuperait la surface extérieure. Sa constitution serait assez complexe: au point qui correspond à l'arrivée du tube nerveux sur le faisceau primitif, se trouverait une sorte de capsule fibreuse munie de noyaux et qui devrait être regardée comme une expansion de la gaine du nerf. A l'intérieur de cette capsule, le cylindre-axe se diviserait en donnant naissance à deux ou trois fibres pâles qui se termineraient par des boutons. Ces fibres pâles se trouveraient logées dans une substance granuleuse qui remplirait l'espace compris entre le sarcolemme et la capsule de la plaque.

De cette observation de Krause il résultait que la masse granuleuse ne devait pas être considérée comme produite par un renflement ultime du cylindre-axe, ainsi que Rouget l'avait soutenu. C'était là certainement un premier progrès réalisé dans la connaissance de la structure de la plaque terminale. Cependant les faits observés par Krause ne furent pas admis par les autres histologistes, car, la même année, Kühne (*Ueber die Endigung der Nerven in den Muskeln*, in *Arch. de Virchow*, 1863, t. XXVII, p. 508), intervint pour

On choisira les muscles de la cuisse. Les tubes nerveux y parcourent souvent un assez long trajet depuis le nerf dont ils proviennent jusqu'au faisceau primitif auquel ils sont destinés. Il suit de là que, dans un petit fragment de ces muscles enlevé avec des ciseaux, il se trouvera fréquemment des faisceaux primitifs qui pourront être isolés de toutes leurs connexions, sans que leurs fibres nerveuses afférentes soient rompues ou tiraillées par la dissociation. Mais il n'est pas nécessaire que les faisceaux musculaires soient absolument séparés les uns des autres pour observer leurs terminaisons nerveuses; il est même bon de ne pas les isoler complètement lorsque l'on se propose de les examiner frais, à l'état vivant pour ainsi dire, et sans addition d'aucun réactif.

Pour aborder cet examen, il faut avoir disposé d'avance, à portée de la main, des ciseaux fins, des pinces, des aiguilles, des lames et des lamelles de verre bien nettoyées. Au moyen des ciseaux, on enlève de petites portions du muscle en pratiquant les sections dans le sens des faisceaux. On les dispose sur la lame de verre et on les étale au moyen des aiguilles en les étendant modérément.

Pendant cette opération, on humecte le tissu au moyen de l'haleine pour éviter la dessiccation, puis on place la lamelle en la pressant légèrement, et

défendre l'opinion de Rouget contre celle de Krause, et Rouget (*Mémoire sur la terminaison des nerfs moteurs*, in *Journal de la physiologie*, 1864, t. V, p. 574), conservant sur la plaque motrice son ancienne manière de voir, soutint que les fibres pâles décrites par Krause n'existaient pas. C'est seulement en 1864 que Kühne, ayant entrepris de nouvelles recherches qu'il publia dans deux mémoires successifs (*Ueber die feinere Structur der Endorgane der motorischen Nerven*, in *Arch. de Virchow*, t. XXIX, p. 433, et *Ueber die Endigung der Nerven in den Nervenhügeln der Muskel*. *Ibid*, t. XXX, p. 187), reconnut que la plaque motrice n'est pas constituée par un simple épanouissement du cylindre-axe, mais que ce dernier, en pénétrant dans la masse granuleuse, s'y divise en plusieurs branches qui s'anastomosent et se terminent par des extrémités libres. Il fit cette observation sur le lézard vert, dont il examina les muscles à l'état vivant, ou après les avoir traités par le sérum du sang légèrement acétifié. A coup sûr, son observation diffère notablement de celle de Krause, mais cependant il a vu, comme lui et après lui, la fibre nerveuse donner naissance en se divisant à des fibres pâles qui, après un certain trajet dans la plaque, s'y terminaient librement. Il diffère encore de Krause en ce qu'il admet que la matière granuleuse et les fibres qui composent l'éminence terminale sont situées au-dessous du sarcolemme, comme il l'avait admis pour le buisson terminal de la grenouille, et comme Rouget l'avait reconnu depuis pour les plaques motrices.

Dans le second des mémoires que je viens de rappeler, Kühne, après un historique très détaillé de la question, donne la première description un peu complète de la plaque terminale. Cette description le conduit au schéma suivant : l'éminence nerveuse est logée dans une baie du sarcolemme; la fibre nerveuse, en y arrivant, abandonne sa gaine, qui se confond avec celle du faisceau musculaire. La myéline cesse brusquement, tandis que le cylindre-axe forme une série de prolongements irréguliers, arborisés et anastomosés, qui occupent la portion superficielle de l'éminence. C'est à cette arborisation terminale que Kühne réserve le nom de plaque motrice, au lieu de l'appliquer à l'éminence nerveuse tout entière, comme l'avaient fait Rouget et Krause. Cette éminence contient encore des noyaux qui appartiennent à la gaine nerveuse, et plus profondément d'autres noyaux clairs, arrondis ou ovalaires, munis de gros nucléoles et compris dans une substance granuleuse. Cette substance, qui serait située au-dessous de l'arborisation terminale, constituerait, d'après Kühne, la semelle de la plaque. L'éminence nerveuse présenterait donc à considérer en premier lieu la plaque et en second lieu la semelle de la plaque qui, comprise entre la substance nerveuse et la substance musculaire, les unirait entre elles. Le tout serait enveloppé du névrilemme, qui se continuerait avec le sarcolemme.

on borde à la paraffine. Cela fait, on recherche, au moyen d'un faible grossissement, s'il se trouve des nerfs dans la préparation, et on les suit du côté de leurs terminaisons pour voir comment elles se présentent. Pour que l'on puisse en faire un examen convenable, il faut qu'elles soient situées sur un plan superficiel et qu'elles se montrent de face à la partie supérieure du faisceau. Lorsque l'on a trouvé des points où ces conditions sont réalisées, on les examine à un fort grossissement (400 à 1000 diamètres) en ayant soin de bien disposer l'éclairage et en le faisant varier au besoin.

La fibre nerveuse à myéline se termine par une extrémité unique ou bien se divise en deux fibres formées chacune d'un segment interannulaire, ou enfin l'une de ces fibres ou toutes les deux se divisent encore une fois de manière à donner à la surface du faisceau trois ou quatre fibres à myéline. Ces fibres sont toutes nettement visibles grâce au double contour de leur gaine médullaire. Lorsque la préparation est réussie et que les faisceaux musculaires sont bien tendus, on voit partir de l'extrémité des tubes nerveux à myéline une arborisation dont les branches, aperçues comme dans un brouillard, possèdent le caractère de devenir obscures quand on éloigne l'objectif après l'avoir mis exactement au point. En outre, on distingue des noyaux, dont quelques-uns sont situés au voisinage des branches de l'arborisation, soit sur leurs côtés, soit sur leur surface elle-même, tandis que les autres, qui n'affectent pas une disposition régulière par rapport à ces branches, doublent la membrane qui revêt l'éminence. Les uns et les autres deviennent brillants quand on éloigne l'objectif.

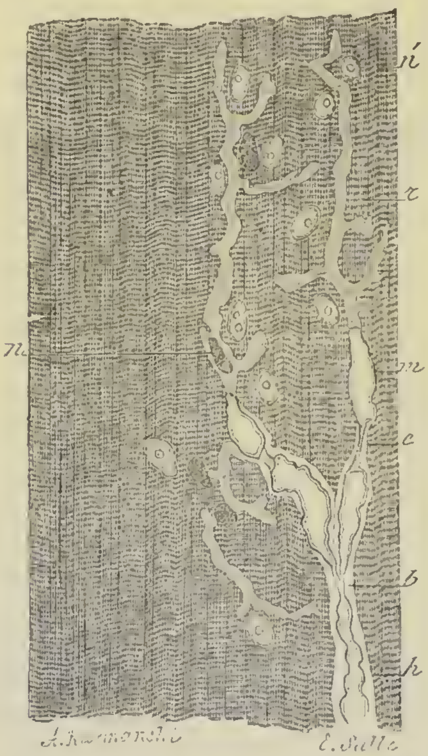


Fig. 287. — Plaque motrice et arborisation terminale des muscles spinaux du lézard vert, observées après l'action de de l'alcool au tiers. — *h*, gaine de Henle du tube nerveux; *b*, bifurcation de ce tube; *e*, étranglement annulaire; *m*, dernier segment interannulaire très court, possédant de la myéline; *r*, ramifications terminales de l'arborisation; *n'*, noyaux fondamentaux.

Si l'on poursuit l'observation, on constate souvent qu'au bout de quelques heures il se forme, au niveau de l'extrémité des branches de l'arborisation, des boules qui ont été signalées par Kühne et qui semblent provenir d'une décomposition de la substance qui constitue les fibres nerveuses elles-mêmes. Cette altération n'est pas constante, et jamais elle ne s'étend à l'arborisation tout entière.

Lorsque, en examinant avec un bon objectif donnant 500 à 800 diamètres des faisceaux musculaires enlevés à l'animal vivant, on a distingué l'arborisation terminale vague, obscure quand on éloigne l'objectif, et qu'on ajoute alors sur le bord de la lamelle une ou deux gouttes d'alcool au tiers, on voit les faisceaux musculaires prendre une certaine opacité au moment où le

réactif les atteint. L'arborisation devient plus distincte, ses branches semblent acquérir un diamètre plus considérable et leurs contours prennent de la fermeté. Au bout d'une demi-heure à une heure, elles sont toutes dessinées avec la plus grande netteté, tandis que les noyaux qu'on observait avant l'addition du réactif deviennent granuleux. En même temps, il apparaît entre les branches de l'arborisation ou un peu au delà de sa limite une troisième espèce de noyaux que l'on n'apercevait nullement au début. Ces noyaux sont grands, clairs, possèdent un gros nucléole et sont limités par un double contour (voy. fig. 287).

On doit donc distinguer dans l'éminence terminale du lézard trois espèces de noyaux : les *noyaux de l'arborisation*, ceux de la membrane qui recouvre l'éminence terminale, *noyaux vaginaux*, et enfin ceux qui sont dispersés dans la matière granuleuse de l'éminence, *noyaux fondamentaux*.

L'arborisation qui, considérée dans son ensemble, a été désignée par Kühne sous le nom de plaque motrice et à laquelle convient bien mieux la dénomination d'*arborisation terminale*, paraît formée, après l'action de l'alcool au tiers, par des branches nerveuses ramifiées, sinueuses, alternativement rétrécies et élargies, se terminant par des extrémités libres tantôt arrondies, tantôt légèrement effilées. Rien n'est plus variable, du reste, que sa disposition, même en considérant une seule espèce de lézards. Tantôt elle procède tout entière d'une seule fibre nerveuse à myéline; d'autres fois, comme il a déjà été indiqué, deux, trois ou quatre fibres à myéline, résultant il est vrai de la division d'un même tube nerveux, concourent à la former.

Quant aux branches de l'arborisation, elles sont plus ou moins sinueuses. Toutes donnent naissance à des branches secondaires dont la forme, l'étendue et le trajet sont également variés. Il arrive parfois qu'elles s'anastomosent les unes avec les autres; mais chez le lézard ce n'est pas la règle, et souvent elles restent complètement individualisées. Elles paraissent formées d'une portion centrale et d'une couche périphérique : la première, ayant un faible indice de réfraction, ce que l'on reconnaît à ce qu'elle devient obscure quand on éloigne l'objectif, la seconde, au contraire, ayant une réfringence plus élevée et qui dépasse même celle des parties qui l'entourent. Aussi est-il probable que les boules claires, qui semblent résulter d'une altération cadavérique de l'arborisation, dérivent seulement de l'écorce des fibres nerveuses terminales, et qu'elles sont formées d'une substance jusqu'à un certain point analogue à la myéline.

Les préparations des éminences terminales du lézard faites avec l'alcool au tiers ne sont pas persistantes. En outre, il est difficile de les réussir complètement, et pour les personnes qui ne sont pas habituées à l'observation microscopique, l'arborisation terminale ne s'y montre pas avec autant d'évidence que dans les préparations obtenues au moyen de la méthode de l'or. Aussi, dans le cas où l'on éprouverait quelque difficulté à voir d'emblée tous les détails des éminences sur les muscles vivants et après l'action de l'alcool au tiers, convient-il d'en observer d'abord des préparations faites au moyen

du chlorure d'or suivant un des procédés indiqués à propos des muscles de la grenouille (voy. p. 620 et 621).

Pour appliquer le procédé de Löwit, on enlève avec des ciseaux des fragments des muscles spinaux ou de tout autre muscle, et on les traite successivement par l'acide formique, le chlorure d'or et l'acide formique (voy. p. 620). Lorsqu'ils ont subi l'action de ces différents réactifs, les fragments de muscles, jaunâtres à la périphérie, violacés au centre, sont assez mous pour qu'en les recouvrant d'une lamelle et en les comprimant légèrement on puisse les étaler de manière à les rendre accessibles à l'observation. En les examinant à un grossissement de 150 diamètres, on voit les nerfs colorés en violet, après s'être divisés et subdivisés, émettre des tubes nerveux qui se terminent sur les faisceaux musculaires par d'élégantes arborisations.

Souvent les préparations obtenues à l'aide de ce procédé simple sont suffisantes. Mais en général les faisceaux musculaires y sont superposés de telle sorte que les points les plus intéressants se présentent mal ou sont masqués. Pour les dégager, chaque expérimentateur devra, comme dans les autres opérations de dissociation, suivre les procédés et employer les instruments dont il a l'habitude.

Lorsqu'on est parvenu à isoler un petit groupe de faisceaux musculaires munis de leurs terminaisons nerveuses, il convient de les disposer de la manière la plus favorable, ce que l'on ne peut faire qu'en les examinant de nouveau à un faible grossissement et en agissant sur eux avec les aiguilles. Ces diverses manipulations sont rendues difficiles parce que les faisceaux musculaires traités par le procédé de Löwit adhèrent à la lame de verre, et comme ils sont devenus très friables, il arrive souvent qu'on ne les en détache qu'après les avoir brisés en quelques points. On termine la préparation en ajoutant de la glycérine simple ou additionnée d'acide formique et en recouvrant d'une lamelle.

Les tubes nerveux, aussi bien ceux qui sont compris dans les nerfs que ceux qui cheminent isolément, présentent des parties renflées et des parties

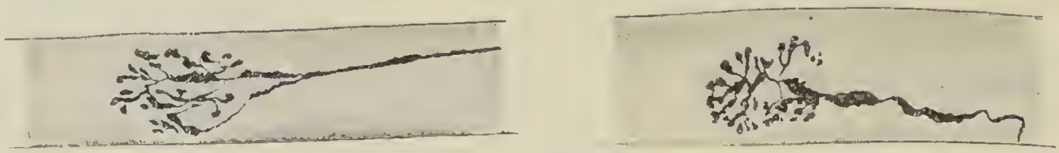


Fig. 288. — Arborisations terminales des muscles de la cuisse du *Lacerta agilis* préparées suivant le procédé de Löwit.

rétrécies. Les premières sont colorées en violet très foncé, tandis que les secondes, qui correspondent aux étranglements annulaires, sont le plus souvent incolores ou à peines teintées, ce qui démontre que, dans ce mode de préparation, la myéline est colorée beaucoup plus fortement que le cylindre-axe. A son arrivée sur le faisceau primitif, le tube nerveux à myéline se termine par un étranglement annulaire ou bien il se divise en deux, trois ou quatre branches colorées comme lui en violet foncé ou en noir. Au delà de ces branches, commence l'arborisation proprement dite ; les rameaux qui

la forment, situés dans l'éminence terminale au-dessous du sarcolemme, présentent des parties renflées alternant avec des parties rétrécies (voy. fig. 288). Souvent, le plus souvent même, cette disposition moniliforme s'exagérant au moins en quelques points, les parties rétrécies deviennent extrêmement grêles, ou même elles disparaissent complètement. Il se produit alors des îlots arrondis ou irréguliers, colorés en violet, qui, bien que disposés avec un certain ordre, sont absolument isolés les uns des autres et semblent ne pas être en rapport avec le reste de l'arborisation terminale.

Quelquefois cette arborisation se détache sur une surface granuleuse colorée en violet plus ou moins foncé et qui correspond par sa forme et ses dimensions à l'éminence terminale. D'autres fois, surtout quand l'arborisation est un peu étendue, chez le lézard vert par exemple, la zone granuleuse est limitée au voisinage de ses principales branches et entoure chacune d'elles comme d'une atmosphère nuageuse (voy. fig. 289). Ces variations ne tiennent pas à des différences anatomiques, mais à l'irrégularité à laquelle sont sujets les résultats de la méthode de l'or. Il convient d'ajouter que, en général, dans les préparations obtenues à l'aide du procédé de Löwit, les différents noyaux de l'éminence terminale ne sont pas visibles.

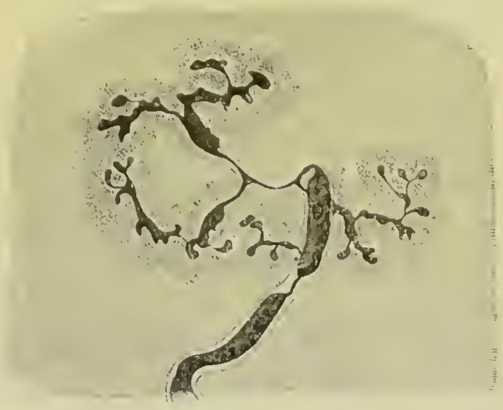


Fig. 289. — Arborisation terminale des muscles de la cuisse du lézard vert, préparée suivant le procédé de Löwit.

Ce procédé, qui permet de reconnaître si facilement dans les muscles l'arborisation terminale, altère cependant les rameaux de cette arborisation à un degré considérable, ce qui tient à ce que, avant de soumettre le tissu à l'action du chlorure d'or, on l'a traité par l'acide formique.

Cependant, pour obtenir une bonne action élective de l'or sur les terminaisons nerveuses des muscles, il est nécessaire de les avoir d'abord traitées par un acide favorisant la réduction de ce métal, ou de faire agir le sel d'or en présence de cet acide. De tous les liquides acides, le jus de citron est celui qui paraît altérer le moins les fibres nerveuses terminales. Aussi convient-il tout spécialement dans la préparation des plaques motrices du lézard et des mammifères.

Manifestées par ce procédé de la méthode de l'or, les branches de l'arborisation terminale sont beaucoup plus régulières et ne présentent pas d'interruptions ni d'îlots séparés. Leurs différents boutons ou bourgeons terminaux, au lieu de se limiter par des surfaces régulièrement arrondies, sont munis de petites saillies en forme de pointes plus ou moins aiguës. Souvent aussi la substance granuleuse de l'éminence, substance fondamentale, s'accuse par une coloration violette, tandis que les noyaux fondamentaux qui y sont contenus apparaissent comme autant de taches incolores, ce qui permet d'apprécier leur nombre et leurs rapports avec les branches de l'arborisation.

On peut encore obtenir de bonnes préparations en traitant directement les muscles par un mélange de chlorure d'or et d'acide formique (chlorure d'or à 1 pour 100, 4 parties; acide formique, 1 partie), porté d'abord à l'ébullition et qu'ensuite on a laissé refroidir. On les y maintient pendant environ vingt minutes. Dans ces conditions, l'acide formique n'altère plus autant l'arborisation terminale, parce que son influence est mitigée par celle du chlorure d'or qui agit comme un réactif fixateur. En outre, le sel d'or, ayant été soumis à l'ébullition en présence de l'acide, a acquis une grande tendance à se réduire, et son action élective sur les parties nerveuses est par le fait beaucoup plus assurée. Au sortir de la solution d'or, les tissus sont lavés et portés dans de l'acide formique additionné de 4 parties d'eau, où la réduction se produit.



Fig. 290. — Arborisation terminale du lézard vert, traitée par le jus de citron, le chlorure d'or et l'acide formique.

Les préparations faites au moyen de ce dernier procédé sont infiniment supérieures à celles que donne celui de Löwit. Les branches de l'arborisation terminale n'y sont presque jamais interrompues, mais elles sont plus irrégulières qu'à la suite du traitement par le jus de citron.

Pour appliquer le nitrate d'argent à la préparation des éminences terminales des lézards, on devra suivre exactement le procédé de Cohnheim qui a été indiqué page 618, à propos du buisson terminal des batraciens. La dissociation des faisceaux musculaires se fera dans le sérum de l'animal. Il importe qu'ils soient complètement isolés avec leurs tubes nerveux afférents lorsqu'on les plongera dans la solution de nitrate d'argent, afin qu'elle puisse baigner régulièrement toute leur surface. Il est nécessaire ensuite de les traiter par l'acide acétique, afin de les ramener à leur dimension première. En les examinant dans un mélange à parties égales d'eau et de glycérine, on constatera que les différentes branches de l'arborisation terminale sont ménagées en clair sur un fond plus ou moins coloré. Cette méthode donne de bons renseignements sur la forme générale de l'arborisation, mais elle n'apprend rien sur le rapport de ses branches avec les noyaux de l'éminence terminale et ne saurait démontrer que cette éminence est recouverte par le sarcolemme[1].

1. Cohnheim a publié une note (*Ueber die Endigung der Muskelnerven*, in *Centralblatt*, 1865, n° 55), et un mémoire (*Ueber die Endigung der Muskelnerven*, in *Arch. de Virchow*, 1865, t. XXXIV, p. 194) sur l'application du nitrate d'argent à l'étude des terminaisons motrices. Dans mes leçons sur l'histologie du système nerveux, j'ai confondu le contenu du mémoire avec celui de la note, et j'ai attribué à la note une étendue et une portée beaucoup plus considérables qu'elle n'en a eu réalité. Cette confusion m'a conduit à accorder un trop grand mérite à Cohnheim et à diminuer celui de Kühne. Il est positif, ainsi que Cohnheim l'a fait ressortir dans une lettre adressée à Virchow en 1878 (*Arch de Virchow*, t. LXXIV, p. 141), qu'entre l'époque où il publia sa première note qui s'occupe seulement des terminaisons motrices de la grenouille, et celle où il fit paraître son mémoire dans lequel il s'est occupé des terminaisons motrices en général, Kühne, dans deux travaux importants parus en 1864 (*Ueber die feinere Structur der Endorganen der motorischen*

Les préparations que l'on obtient au moyen de l'acide osmique permettent de répondre à ces questions. Le meilleur procédé pour faire agir l'acide osmique sur un muscle et sur les éléments nerveux qu'il contient consiste à y pratiquer une injection interstitielle, au moyen d'une seringue hypodermique contenant une solution de ce réactif à 1 ou 2 pour 100. Immédiatement après que l'on a fait l'injection, on enlève le muscle et on le plonge dans l'eau distillée. Il y est dissocié en suivant les indications qui ont été données page 628, et les faisceaux primitifs, isolés ou en petits groupes avec leur fibres nerveuses afférentes, sont colorés au moyen du picrocarminate d'ammoniaque, lavés, traités par l'acide formique et conservés dans un mélange de glycérine et de ce dernier acide.

Les tubes nerveux s'y voient très nettement entourés de leur gaine de Henle. Lorsque les éminences auxquelles ils se terminent se présentent de profil, on reconnaît sans peine que cette gaine s'élargit, recouvre l'éminence et vient se confondre avec le sarcolemme, tandis que la gaine de Schwann, au delà du dernier étranglement annulaire, paraît se poursuivre sur les fibres pâles qui font suite à la fibre nerveuse à myéline ; du moins il est impossible de distinguer un point quelconque où elle se terminerait.

Les arborisations terminales se voient d'une façon assez vague, et leurs branches se montrent sous la forme de cordons ramifiés clairs se détachant sur un fond plus sombre. Par contre, les différents noyaux de l'éminence apparaissent nettement : ceux de l'arborisation et ceux de la gaine (noyaux vaginaux) sont petits, irréguliers, granuleux, fortement colorés en rouge, tandis que les noyaux fondamentaux, souvent à peine teintés, sont grands, clairs, possèdent un double contour bien manifeste et contiennent un gros nucléole qui est coloré en rouge plus intense.

Si l'on a conservé des doutes sur les rapports de l'éminence nerveuse avec le sarcolemme, on fera bien de les étudier dans des coupes transversales des faisceaux musculaires. Il faut d'abord faire durcir le muscle tout en assurant la conservation des éminences terminales. On obtient ce résultat au moyen des injections interstitielles d'acide osmique et de l'action successive de l'alcool, de la gomme et de l'alcool. Ces coupes, qui doivent être très fines, seront d'abord examinées à un faible grossissement pour reconnaître celles dans lesquelles un ou plusieurs faisceaux musculaires ont été atteints au niveau de leurs plaques motrices. On les soumettra ensuite à l'action de l'eau distillée sous la lamelle de verre, afin d'enlever la gomme qui les imprègne, puis on fera agir successivement, également sous la lamelle, le picrocarminate et la glycérine additionnée d'acide formique.

Sur les faisceaux qui sont sectionnés au niveau d'une éminence terminale, celle-ci s'accuse par sa forme, son aspect, sa coloration et les nombreux noyaux qu'elle contient. Le sarcolemme la recouvre, et on le voit se continuer avec la membrane de Henle du tube nerveux afférent, lorsque celui-ci

Nerven, in *Arch. de Virchow*, t. XXIX, p. 455, et *Ueber die Endigung der Nerven in der Nervenhügeln der Muskel. Ibid.*, t. XXX, p. 187), avait fait connaître les formes variées qu'affecte la ramification des nerfs dans les éminences terminales.

a été ménagé dans la coupe. Entre la masse granuleuse de l'éminence et la substance musculaire, on ne reconnaît aucune bordure claire qui correspondrait à une membrane. Dans l'éminence elle-même, on remarque les diverses espèces de noyaux déjà indiqués qui sont colorés en rouge et des corps grisâtres non colorés qui ne sont autre chose que des branches de l'arborisation sectionnées plus ou moins obliquement. Au voisinage immédiat de ces branches siègent les noyaux de l'arborisation ; généralement les noyaux fondamentaux sont un peu plus profonds : quant aux noyaux vaginaux, ils sont situés immédiatement au-dessous de la membrane qui revêt l'éminence.

Pour la recherche et l'étude des plaques motrices chez les mammifères, le lapin en particulier, on pourra suivre les différentes méthodes indiquées

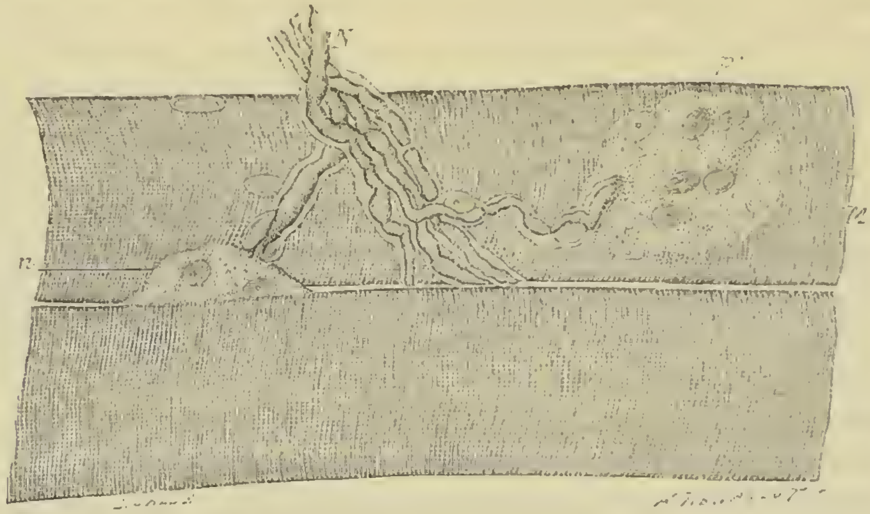


Fig. 291. — Deux faisceaux des muscles intercostaux du lapin, dissociés après injection interstitielle d'acide osmique et colorés au moyen du picrocarminate. Ils montrent deux éminences terminales vues, l'une de face, l'autre de profil. — *N*, nerf; *M*, faisceau musculaire *p*, plaque motrice vue de profil; *p'*, plaque motrice vue de face.

précédemment. On prendra des fragments de n'importe quel muscle dans la région où l'on verra à l'œil nu des filets nerveux se ramifier dans la masse musculaire, et généralement on y trouvera des faisceaux primitifs munis d'éminences terminales. Mais, pour arriver plus facilement à ce résultat, il est avantageux de choisir des muscles dont les fibres sont très courtes, entre autres les muscles de l'œil et les intercostaux. En effet, comme les faisceaux primitifs reçoivent chacun un tube nerveux et qu'ils n'en reçoivent généralement qu'un seul, plus ils sont courts, plus on a de chance d'y rencontrer des terminaisons nerveuses.

Si l'on se propose de faire une étude comparative des arborisations terminales des muscles rouges et des muscles blancs du lapin, on fera bien de prendre le triceps crural, les jumeaux étant des muscles blancs, tandis que le soléaire est un muscle rouge. Lorsque après avoir coupé le tendon d'Achille on relève l'ensemble des muscles qui lui appartiennent, et qu'ensuite on détache le soléaire au niveau de son insertion supérieure, on met à nu la face antérieure des jumeaux. Immédiatement au-dessous du soléaire, sur la

face antérieure du jumeau interne, se trouve une masse musculaire dont les faisceaux dirigés de haut en bas et de dehors en dedans viennent s'insérer obliquement à une aponévrose intramusculaire qui apparaît à la face antérieure du jumeau comme une ligne verticale blanchâtre et nacrée. Ces faisceaux, qui sont assez courts, conviennent d'une manière toute spéciale pour l'étude des terminaisons nerveuses. Il est presque aussi aisé de les dissocier et de les étaler que ceux du gastrocnémien de la grenouille et des muscles de la cuisse des lézards. Comme ils sont groupés en faisceaux secondaires facilement isolables, qui reçoivent chacun un petit tronc nerveux distinct, on arrive sans difficulté à séparer complètement un de ces derniers faisceaux et à le placer de telle sorte qu'on y voie un grand nombre de terminaisons nerveuses bien disposées pour l'observation.

On peut examiner ainsi le muscle vivant sans addition d'aucun réactif ou bien en le soumettant à l'influence de l'alcool au tiers. Mais les branches de l'arborisation sont rarement assez nettes pour qu'on puisse les suivre dans tout leur trajet, qui paraît fort compliqué. Aussi est-il nécessaire, pour les bien observer, d'avoir recours à la méthode de l'or, en employant l'un des deux procédés qui ont été indiqués à propos des éminences terminales des muscles des lézards (voy. p. 626). Il est rare que l'on ne réussisse pas, lorsque l'on suit exactement les indications qui ont été données (voy. p. 628).

Dans les muscles du lapin, l'éminence terminale forme une saillie beaucoup plus marquée que chez le lézard; elle est moins étendue, les branches de l'arborisation y sont beaucoup moins étalées et les noyaux des différentes espèces sont beaucoup plus rapprochés les uns des autres. Ces noyaux se détachent en clair sur un fond coloré en violet et formé par la substance granuleuse de l'éminence. Lorsque la préparation est bien réussie, les branches de l'arborisation sont d'un violet presque noir et très nettement dessinées. Elles se montrent comme des rubans plus ou moins sinueux, dont les bords sont munis de légères saillies en forme de pointe lorsque l'on a employé le procédé du jus de citron. Si l'on a fait usage du chlorure d'or bouilli avec de l'acide formique, elles sont souvent moins régulières; enfin, elles sont plus irrégulières encore et souvent même interrompues, lorsque l'on a suivi le procédé de Lövit.



Fig. 292. — Trois arborisations terminales des muscles jumeaux du lapin, imprégnés par l'or.

Bien qu'elle soit toujours comprise dans le cercle à peu près régulier de l'éminence nerveuse, l'arborisation terminale n'a pas une forme absolument constante (fig. 292). Parfois le tube nerveux à myéline, au moment où il atteint l'éminence, se divise en deux branches qui la contournent en sens inverse et lui forment comme une sorte de couronne. Ces premières branches donnent alors des rameaux secondaires plus ou moins nombreux, plus ou moins longs, plus ou moins contournés, qui se terminent par une seule

extrémité ou se ramifient à leur tour. Tous ces rameaux ou du moins la plupart d'entre eux se dirigent vers le centre de l'éminence et se trouvent entourés par la couronne que forment les branches principales. Ils s'entrecroisent ou s'anastomosent de la manière la plus variée.

Il arrive aussi que le tube nerveux afférent, après avoir atteint l'éminence, se divise et se subdivise et donne des rameaux qui s'anastomosent les uns avec les autres pour former un plexus dont les mailles sont plus ou moins larges, plus ou moins régulières, et dont les travées se terminent finalement à la périphérie de l'éminence par des anses ou par des extrémités libres.

D'autres fois, une seule branche principale traverse l'éminence suivant un de ses diamètres en donnant à gauche et à droite des branches secondaires qui se divisent à leur tour.

D'autres fois encore, le tube nerveux afférent se divise de manière à donner deux branches qui se comportent de la même façon.

Des anastomoses peuvent se faire entre ces différents rameaux; mais il arrive souvent qu'on n'en observe aucune. L'arborisation affecte alors une forme dendritique assez régulière.

Quelle que soit la disposition de l'arborisation terminale, il est rare que ses derniers rameaux atteignent la limite de la substance granuleuse de l'éminence. Il en résulte que si, en examinant une éminence nerveuse de profil, on tenait compte de l'image de la surface seulement du faisceau musculaire sans en analyser la coupe optique en différents points de son épaisseur, on se laisserait facilement conduire à admettre que la matière granuleuse fondamentale et les noyaux qui l'occupent sont dans un plan plus profond que l'arborisation elle-même.

Les diverses formes de l'arborisation peuvent être observées également dans les muscles blancs et dans les muscles rouges; il serait même difficile de dire si l'une ou l'autre d'entre elles prédomine dans l'une de ces deux espèces de muscles. Mais, dans les muscles rouges, les éminences terminales sont relativement plus étendues, ce qui tient probablement à ce que les faisceaux musculaires ont un plus grand diamètre. Les arborisations terminales y sont plus étalées, et dès lors les préparations que l'on en fait au moyen de la méthode de l'or sont plus belles et plus démonstratives.

Les muscles striés volontaires ne sont pas les seuls qui possèdent des plaques motrices. En effet, dans la portion supérieure l'œsophage chez l'homme, dans toute son étendue chez quelques mammifères, le lapin en particulier, il existe des faisceaux musculaires striés qui ne se contractent pas sous l'influence directe de la volonté et dont les nerfs se terminent cependant par des plaques motrices. Les cœurs lymphatiques des reptiles écailleux et des batraciens contiennent également des fibres striées qui diffèrent, il est vrai, par quelques caractères de celles des muscles volontaires (voy. p. 559), mais dans lesquelles les nerfs se terminent de la même façon.

La tunique musculaire de l'œsophage du lapin est constituée par trois plans superposés, un externe et un interne, formés de fibres longitudinales,

et un moyen dans lequel les faisceaux affectent une direction transversale. Malgré sa complexité, cette tunique est assez mince pour qu'on puisse l'examiner au microscope en l'étalant à plat sur une lame de verre après l'avoir détachée de la muqueuse qui la double.

On peut appliquer à l'œsophage tous les procédés dont on se sert pour démontrer les plaques motrices dans les muscles de la vie animale; mais la méthode de l'or est celle qui donne les meilleurs résultats, surtout si l'on emploie le procédé du jus de citron. Après que des fragments d'œsophage ont été traités successivement par ce liquide, par le chlorure d'or et par l'acide formique, il suffit d'en détacher la tunique musculaire et de l'examiner à plat pour y observer un nombre considérable de terminaisons nerveuses. Il n'est aucun muscle, du moins chez les mammifères, où les éminences terminales se montrent aussi nombreuses que dans le muscle œsophagien. C'est là un fait à noter, car il est en rapport avec le rôle important et compliqué que joue le système nerveux dans les contractions péristaltiques de l'œsophage. L'étendue de ces éminences est à remarquer aussi; elles sont comparables sous ce rapport à celles des muscles du lézard.

Les fibres nerveuses qui s'y rendent et qui proviennent du pneumogastrique sont revêtues de myéline jusqu'au point où elles atteignent les faisceaux primitifs. Avant de s'y terminer, elles rencontrent, dans l'épaisseur même de la couche musculaire, un plexus élégant formé de ganglions stellaires largement anastomosés les uns avec les autres, et dont l'or a bien dessiné la plupart des détails. Ce plexus, qui appartient au vaste appareil nerveux plexiforme myentérique découvert par Auerbach, diffère cependant notablement de celui de l'intestin grêle. Ses mailles sont plus grandes, ses ganglions sont plus volumineux et ses travées contiennent des fibres à myéline.

Les fibres nerveuses pourvues d'une gaine médullaire qui cheminent dans les travées du plexus œsophagien et traversent les ganglions de ce plexus sont des fibres du pneumogastrique qui se rendent à leurs terminaisons. Pour les suivre dans une grande étendue et bien apprécier leurs divers rapports, il est bon de les traiter par l'acide osmique en employant la méthode suivante : après avoir placé une ligature sur l'œsophage à sa partie inférieure, on y injecte avec une seringue ou une pipette fixée à son extrémité supérieure une quantité d'eau salée à la dose physiologique (6 pour 1000) suffisante pour le gonfler modérément. Une seconde ligature y maintient le liquide injecté. On le plonge alors dans une solution d'acide osmique à 1 pour 500, contenue dans un tube bouché dont le diamètre est à peine supérieur au sien, ce qui permet d'employer une quantité moins considérable du réactif. Un bain de trois à quatre minutes suffit pour que l'acide osmique diffuse à travers toute l'épaisseur de la membrane. On enlève alors l'œsophage, on l'incise longitudinalement et on le laisse dégorger quelques heures dans l'eau salée, puis au moyen des pinces on sépare la muqueuse de la musculeuse. Celle-ci fournit une préparation dans laquelle il est facile de suivre les fibres à myéline dans tout leur trajet et de reconnaître que

chacune d'elles, avant d'atteindre une éminence terminale, est en rapport au moins avec un des ganglions du plexus œsophagien [1].

A l'inverse de l'œsophage, les cœurs lymphatiques ne contiennent pas dans leur intérieur de cellules ganglionnaires. Pour faire l'étude des terminaisons motrices dans ces organes, on doit choisir la couleuvre à collier, parce que chez cet animal, que l'on peut du reste se procurer facilement, la tunique musculaire a une épaisseur suffisante pour qu'on puisse la traiter avantageusement par la méthode de l'or, et aussi parce que les arborisations terminales y sont parfaitement nettes.

Si l'on veut observer d'abord la distribution des nerfs dans le cœur lymphatique, on fera bien d'avoir recours à l'acide osmique. En employant ce réactif comme il a été dit déjà à la page 558, on obtient des préparations dans lesquelles on reconnaît que les nerfs à myéline sont en très grand nombre dans cet organe. On y voit de petits rameaux nerveux, munis de leur gaine de Henle, se diviser, se subdiviser et s'anastomoser entre eux. La plupart des tubes nerveux qui s'en dégagent conservent leur gaine médullaire jusqu'à leur terminaison; quelques-uns cependant perdent leur myéline avant d'arriver sur le faisceau musculaire auquel ils se rendent. Ils se terminent dans des éminences granuleuses munies de noyaux.

Pour reconnaître qu'ils forment des arborisations terminales analogues à celles des muscles volontaires, il faut avoir recours à la méthode de l'or. Les préparations obtenues à l'aide de cette méthode permettent de constater que, dans la musculature des cœurs lymphatiques, le nombre de ces arborisations est très considérable (souvent on en remarque deux dans le voisinage l'une de l'autre sur un même faisceau primitif), qu'elles ont une étendue assez petite, en rapport du reste avec le diamètre des fibres musculaires auxquelles elles appartiennent.

Les faisceaux musculaires des cœurs lymphatiques ne sont pas les seuls dont les fibres nerveuses afférentes se dépouillent de leur gaine médullaire avant de se terminer. Chez les reptiles, les chéloniens et les urodèles, ainsi que Tschiriew l'a indiqué [2], on observe dans les muscles striés volontaires traités par l'or, à côté des terminaisons nerveuses ordinaires (buissons terminaux ou plaques motrices), de petites arborisations terminales auxquelles il a donné le nom de grappes. Les fibres nerveuses qui s'y rendent, munies d'abord d'une gaine médullaire, la perdent avant de les atteindre.

Si l'on traite par la méthode de l'or, suivant les procédés indiqués précédemment (voy. p. 620), les muscles de la langue de la grenouille, on peut y observer un très grand nombre de terminaisons motrices, qui par leur forme se rapprochent des grappes terminales décrites par Tschiriew. Comme ces dernières, elles proviennent de fibres nerveuses qui se sont dépouillées de

1. Pour plus amples détails, voy. *Leçons d'anatomie générale* 1877-1878 (*Appareils nerveux terminaux des muscles de la vie organique*, p. 571 et suivantes).

2. *Tschiriew*, Sur les terminaisons nerveuses dans les muscles striés (*Archive de physiologie*, 1879, p. 89)

leur myéline. Une seule de ces fibres, en se divisant et se subdivisant, innerve parfois un grand nombre de faisceaux musculaires. Il arrive souvent que d'une des ramifications qui composent une grappe terminale se dégage une fibre nerveuse qui va se rendre à la grappe terminale d'un faisceau musculaire voisin. Parfois les choses se compliquent, et l'on voit une série de terminaisons motrices qui, reliées les unes aux autres par des fibres nerveuses, constituent avec elles un véritable plexus.

Chez les mammifères, le lapin en particulier, les nerfs moteurs de la langue se rendent à des plaques motrices ordinaires, mais avant de s'y terminer leurs fibres s'entre-croisent et affectent dans leur ensemble une disposition plexiforme[1].

Terminaison des nerfs dans le muscle cardiaque. — Les nerfs qui se rendent au muscle cardiaque contiennent des fibres nerveuses à myéline, mais elles perdent toutes leur gaine médullaire bien avant d'atteindre leur terminaison. En outre, il leur est annexé des cellules nerveuses disséminées sur leur trajet ou réunies en petits groupes sous forme de ganglions distincts.

Remak[2] a constaté le premier l'existence de ganglions nerveux sur les nerfs cardiaques en suivant ces nerfs au moyen du scalpel dans l'épaisseur même du cœur, chez le veau. Ludwig[3], en examinant au microscope la cloison interauriculaire de la grenouille, découvrit les nombreuses cellules ganglionnaires qui au niveau de cette cloison sont appendues aux nerfs cardiaques. Plus tard Bidder[4], reprenant cette observation, vit les nerfs cardiaques former au niveau du sillon auriculo-ventriculaire deux masses ganglionnaires distinctes (ganglions auriculo-ventriculaires ou ganglions de Bidder).

Pour bien apprécier chez la grenouille la disposition des nerfs cardiaques et des cellules ganglionnaires qui leur sont annexées, il convient de dilater

1. Le curare agit sur les extrémités périphériques des nerfs moteurs, ainsi qu'il résulte d'une des plus ingénieuses expériences de Claude Bernard : après que l'on a, chez une grenouille, dégagé un des nerfs sciatiques et établi une ligature étreignant fortement la cuisse en laissant le nerf au dehors, on empoisonne l'animal en introduisant du curare dans le sac dorsal. Tous les muscles volontaires se paralysent, à l'exception de ceux qui sont au delà de la ligature. On a supposé, dès lors, que le curare porte son action sur les plaques motrices.

Ce qui se passe du côté des cœurs lymphatiques chez les batraciens ou les reptiles curarisés semble venir à l'appui de cette manière de voir, puisque ces organes, où les nerfs se terminent par des plaques motrices ou des buissons terminaux, sont paralysés en même temps que les muscles volontaires, tandis que le cœur sanguin, où les nerfs se terminent d'une tout autre façon, continue à battre. Mais le problème n'est pas aussi simple. En effet, aussi bien chez les mammifères que chez les batraciens, alors que tous les nerfs volontaires sont paralysés sous l'influence du curare, l'hypoglosse conserve encore son action sur les muscles de la langue, et cependant il se termine par des plaques motrices ou leurs équivalents.

2. *Remak*, Neurologische Erlaüterungen (*Archives de Müller*, 1844, p. 463).

3. *Ludwig*, Ueber die Herznerven der Frosches (*Müller's Archiv*, 1848, p. 130).

4. *Bidder*, Ueber functionnell verschiedene und raümlich getrennte Nervencentra im Froschherzen (*Müller's Archiv*, 1852, p. 163).

les cavités du cœur et d'en fixer les parois afin de pouvoir ensuite isoler la cloison et l'examiner au microscope à l'état d'extension. Dans ce but, Ludwig insufflait le cœur et le laissait sécher. Il vaut mieux employer le procédé suivant : après avoir immobilisé une grenouille verte (*Rana esculenta*) au moyen du curare ou par la destruction de la moelle épinière, on pratique au-devant du sternum une incision longitudinale et l'on met ainsi à découvert cet os dans toute sa longueur. On le soulève au moyen d'une pince au niveau de son extrémité inférieure, et d'un coup de ciseaux on le dégage de ses insertions abdominales; continuant alors de se servir des ciseaux et de la pince, on l'enlève complètement en respectant le péricarde pariétal. Puis on saisit le péricarde à sa partie inférieure, on l'incise et, introduisant dans sa cavité la branche mousse des ciseaux, on agrandit l'incision de manière à mettre complètement à nu le cœur, le bulbe aortique et les deux aortes qui en partent. Chez la grenouille verte, le péricarde se réfléchit sur ces artères et leur forme une gaine complète, de telle sorte que sans aucune dissection on peut passer au-dessous d'elles un fil au moyen duquel on soulève le cœur. Après avoir coupé une bride filamenteuse qui relie sa pointe au péricarde pariétal, on met à découvert sans difficulté le sinus veineux, sorte d'infundibulum de l'oreillette droite dans lequel viennent déboucher la veine cave inférieure et les deux veines caves supérieures. Chacune de ces veines est successivement liée au niveau du point où elle s'ouvre dans le sinus. Le cœur continue à battre et se vide de la plus grande partie du sang qu'il contenait. On fait alors à l'une des aortes avec des ciseaux une petite ouverture que l'on agrandit par une incision longitudinale, et l'on y introduit une canule mousse que l'on fixe par une ligature. A cette canule on adapte une petite seringue en verre remplie d'eau salée à la dose physiologique (6 pour 1000), que l'on injecte dans les cavités du cœur de manière à les distendre et à les laver. Le liquide s'écoule par la seconde aorte, laissée libre jusque-là.

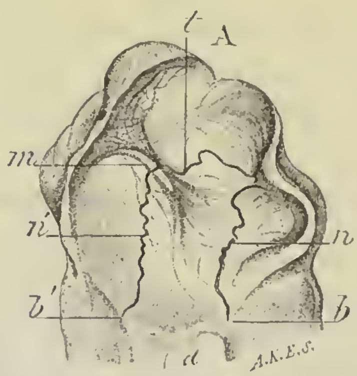


Fig. 295. — Cloison des oreillettes du cœur de la grenouille verte, vue du côté gauche. Le cœur a été fixé par injection d'un mélange d'alcool et d'acide osmique, la paroi de l'oreillette gauche a été enlevée. — *n*, nerf cardiaque postérieur; *n'*, nerf cardiaque antérieur; *l*, portion horizontale de ce nerf; *b*, ganglion auriculo-ventriculaire postérieur; *b'*, ganglion auriculo-ventrilaire antérieur; *m*, repli musculaire faisant saillie dans l'oreillette droite et vu par transparence. (Dessin fait à la loupe.)

Après avoir injecté ainsi 5 centimètres cubes environ de liquide, on retire la seringue en laissant la canule, et lorque le cœur, dont les battements continuent, s'est vidé à peu près complètement, on ferme au moyen d'une dernière ligature la seconde aorte.

On aspire alors successivement dans la seringue une partie d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et une partie d'alcool ordinaire. Comme l'alcool réduit l'acide osmique au bout d'un instant, il est nécessaire de faire le mélange des deux réactifs dans la seringue et même de ne pas attendre trop longtemps pour le pousser dans le cœur.

A mesure qu'on l'y fait pénétrer, le ventricule d'abord, puis les deux oreillettes et le sinus veineux se distendent, et les tissus qui composent leurs parois sont fixés au bout de quelques minutes. On détache alors le cœur pour le porter dans un petit baquet rempli d'eau salée à 6 pour 1000, au fond duquel on a préalablement coulé de la cire vierge. On l'y fixe avec des épingles et, tout en l'observant à la loupe, on pratique à la paroi de l'oreillette gauche une ouverture que l'on agrandit pour découvrir complètement la cloison interauriculaire. On y distingue les deux nerfs cardiaques comme deux filaments noirs compris dans son épaisseur. Le nerf cardiaque postérieur se rend à peu près directement du sinus veineux à la lèvre postérieure de l'orifice auriculo-ventriculaire; l'antérieur, un peu plus grêle, se dirige d'abord en avant, comme pour gagner le bord antérieur de la cloison, puis se recourbe à angle droit et chemine parallèlement à ce bord pour se rendre à la lèvre antérieure de l'orifice auriculo-ventriculaire. Ces deux nerfs semblent se terminer brusquement par deux intumescences gangliformes. On enlève alors la paroi externe de l'oreillette droite et l'on incise le sinus veineux de manière à découvrir les nerfs dans la partie supérieure de leur trajet. Sur le sinus lui-même, ils sont unis par une branche anastomotique, dont la disposition et l'importance paraissent fort variables. Ils s'anastomosent également au niveau de l'orifice auriculo-ventriculaire, ainsi qu'on peut facilement le reconnaître lorsque, après avoir dégagé la cloison comme il a été dit, on divise complètement le ventricule en deux parties, l'une antérieure, l'autre postérieure, par une incision latérale qui doit ménager la cloison interauriculaire et la pointe qu'elle envoie dans l'intérieur même du ventricule. Le filet nerveux anastomotique se dégage des nerfs cardiaques au niveau ou un peu au-dessus des ganglions de Bidder et décrit un demi-cercle qui correspond à la partie droite de l'orifice auriculo-ventriculaire (fig. 295).

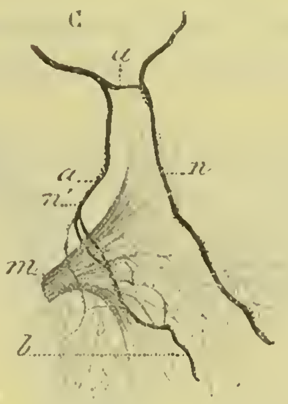


Fig. 294. — Portion du sinus veineux et de la cloison interauriculaire du cœur de la grenouille verte, avec les deux nerfs cardiaques. — *n*, nerf postérieur; *n'*, nerf antérieur; *a*, anastomose des deux nerfs cardiaques au niveau du sinus; *m*, pilier de la cloison faisant saillie dans l'oreillette droite et située en avant du sinus veineux; *n' b*, portion dont on verra le détail fig. 296.

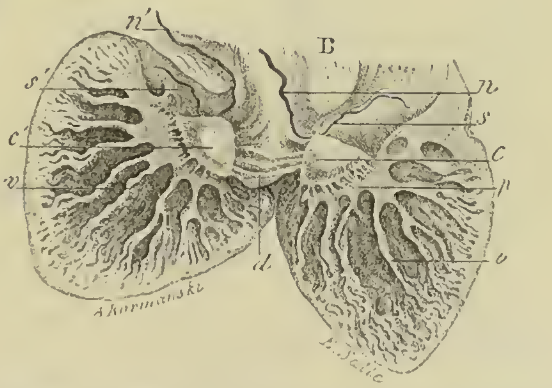


Fig 295. — Cœur de la grenouille verte fixé par l'injection d'un mélange d'alcool et d'acide osmique. Ventricule fendu latéralement et cloison des oreillettes présentée par sa face latérale droite. Le haut de la cloison et les parois des oreillettes ont été réséquées. — B, partie inférieure de la cloison des oreillettes; *n*, nerf cardiaque postérieur; *n'*, nerf cardiaque antérieur; *s*, *s'*, branche anastomotique des nerfs cardiaques, au niveau de la base du ventricule; *v*, ventricule; *c*, collerette de la valvule auriculo-ventriculaire; *p*, plateau qui lui fait suite; *d*, pointe de la cloison.

Après avoir fait ces premières observations, on détache complètement la cloison en enlevant avec elle les deux ganglions qui terminent les nerfs cardiaques, on la dispose à plat sur une lame de verre dans une goutte d'eau salée et l'on examine au microscope. Il est facile, même à un faible grossissement, de reconnaître les nombreuses cellules ganglionnaires

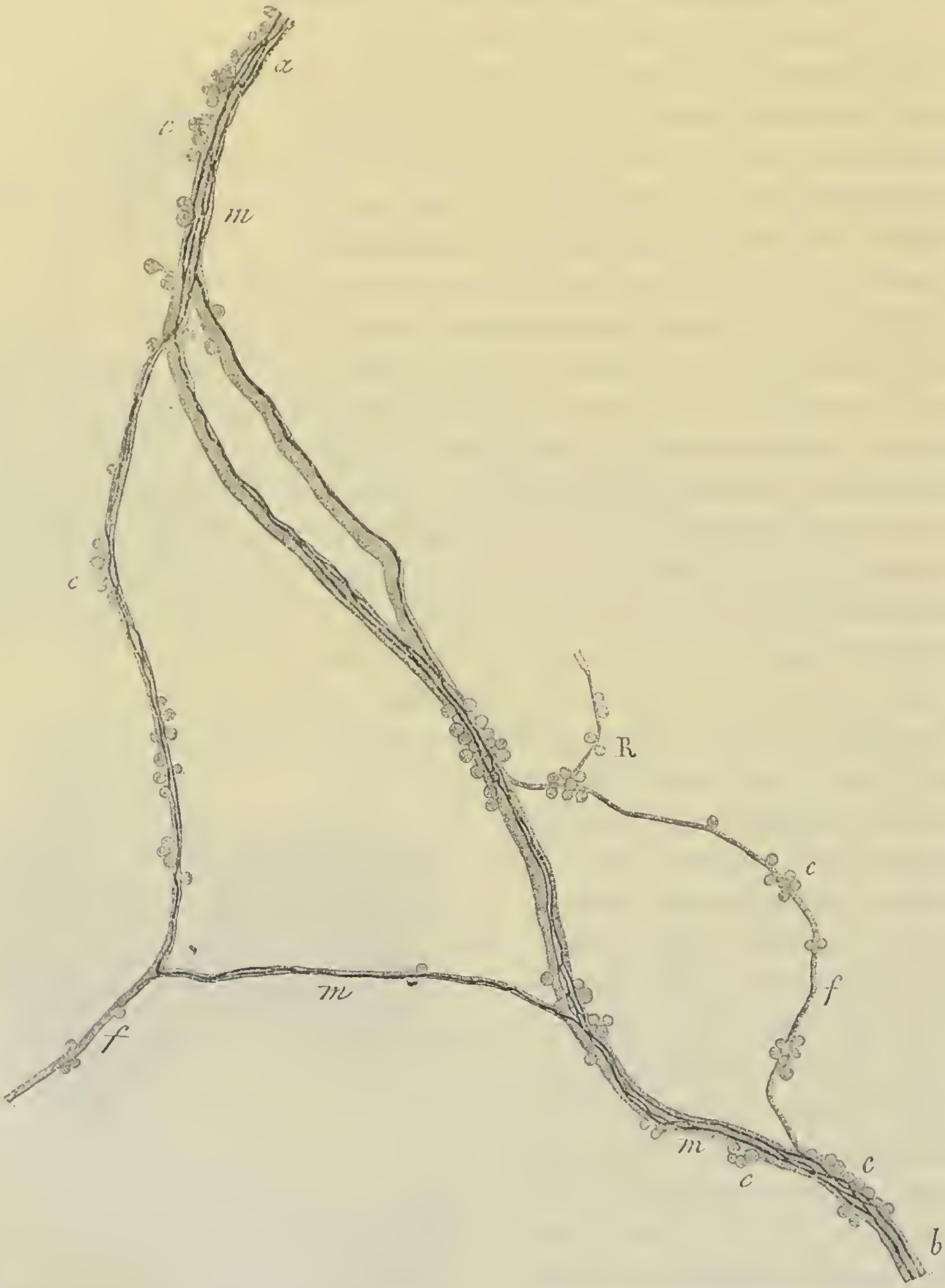


Fig. 296. — Portion du nerf antérieur de la cloison des oreillettes du cœur de la grenouille, correspondant à la partie *n'b* du nerf représenté fig. 294. — *m*, nerf contenant des tubes nerveux à myéline; *f*, nerf sans myéline; *c*, cellules ganglionnaires; R, petit ganglion situé au confluent de trois branches nerveuses et dont on verra le détail fig. 297.

annexées aux troncs nerveux et à leurs branches principales. Ces cellules se montrent déjà sur les nerfs cardiaques à la surface du sinus, avant leur entrée dans le cœur. Elles y forment un amas ganglionnaire spécial.

Dans la cloison interauriculaire, elles ont une distribution très irrégulière et ne forment pas de ganglions proprement dits. Enfin, au niveau du sillon

auriculo-ventriculaire elles sont groupées en plus grand nombre, soit à la surface, soit dans l'épaisseur même des cordons nerveux pour constituer les ganglions de Bidder.

Au delà de ces ganglions, il n'y a plus une seule cellule nerveuse sur le trajet des nerfs, et les fibres qui les composent perdent leur myéline pour pénétrer dans l'épaisseur du ventricule.

Les cellules nerveuses que l'on observe au niveau du sinus et de la cloison sont presque toutes disposées à la périphérie des cordons nerveux et leur sont reliées par un pédicule plus ou moins long. Dès lors, on serait porté à les considérer comme des cellules unipolaires. Quelquefois deux d'entre elles, comprises dans une même capsule, semblent ne posséder qu'une seule fibre afférente. Elles contiennent un noyau volumineux muni d'un gros nucléole. Après l'action du mélange d'alcool et d'acide osmique, leur masse se rétracte au sein de la capsule qui les enveloppe, de manière à figurer sur la coupe optique une série de prolongements laissant entre eux des festons concaves. Ce ne sont pas là des prolongements analogues à ceux qui, dans les cellules multipolaires, donnent naissance à des fibres nerveuses; ils sont simplement la conséquence du retrait provoqué par le réactif.

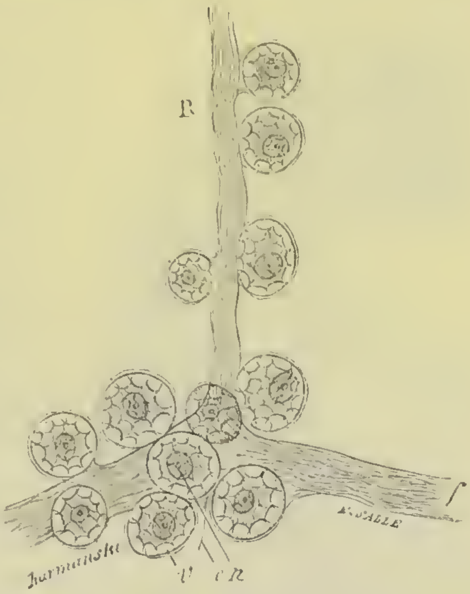


Fig. 297. — Cellules ganglionnaires appendues à des ramifications sans myéline du nerf cardiaque antérieur, chez la grenouille verte (voy. fig. 296, B). Le protoplasma de ces cellules s'est rétracté sous l'influence des réactifs, de manière à laisser au-dessous de leur capsule une série d'espaces *v*, remplis du liquide additionnel; *n*, noyau des cellules ganglionnaires.

Ces cellules ne sont pas unipolaires: outre leur prolongement principal, qui est rectiligne, elles émettent encore une fibre beaucoup plus grêle dont le trajet est spiral. Ce sont là des cellules à fibre spirale, semblables à celles qui ont été découvertes il y a longtemps déjà, dans le sympathique de la grenouille, par L. Beale[1].

Comme, dans les préparations de la cloison interauriculaire de la grenouille faites suivant le procédé indiqué plus haut, les cellules nerveuses sont recouvertes par l'endocarde et mélangées aux éléments connectifs et musculaires de la cloison, il est difficile de constater qu'elles sont à fibre spirale, surtout si l'on n'a pas déjà appris à reconnaître les cellules de ce genre en les étudiant complètement isolées.

Beale et les histologistes qui l'ont suivi, J. Arnold entre autres, ont conseillé de les prendre dans le sympathique et de les préparer en dissociant les cordons nerveux qui le composent, au niveau du plexus lombaire par

1. *L. Beale*, On the structure of the so-called apolar, unipolar and multipolar ganglion-cells of the frog (*Philosophical Transactions*, 1863, p. 153).

exemple. Mais, chez les batraciens, les cordons sympathiques sont tellement serrés que, même en ayant recours aux meilleurs réactifs dissociateurs, on n'arrive qu'avec une très grande difficulté à en isoler des cellules nerveuses avec leurs prolongements.

Il est au contraire facile de le faire en dissociant le pneumogastrique de la grenouille qui, au milieu de nombreuses fibres à myéline, contient des fibres de Remak et des cellules à fibres spirales en nombre relativement restreint. La dissociation doit être pratiquée avec les aiguilles en suivant les indications données page 558 après que le nerf pneumogastrique aura séjourné pendant une demi-heure environ dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100.

Ces cellules, examinées à un grossissement de 400 à 500 diamètres dans l'eau ou dans une solution faible de picrocarminate, montrent une disposition fort complexe. Entourées d'une capsule munie à sa face interne de noyaux aplatis, elles sont formées d'une masse granuleuse contenant un noyau sphérique et volumineux. De leur corps se dégage un prolongement principal rectiligne sur lequel la capsule se prolonge en forme de gaine. En un point plus ou moins distant du corps cellulaire, cette gaine livre passage à une fibre qui pénètre dans son intérieur et qui, s'enroulant autour du prolongement principal, monte en décrivant des tours de spire de plus en plus serrés jusqu'au globe ganglionnaire, auquel elle forme ainsi une sorte de calice (fig. 298). On ne voit rien des dispositions compliquées qui ont été décrites par J. Arnold[1].

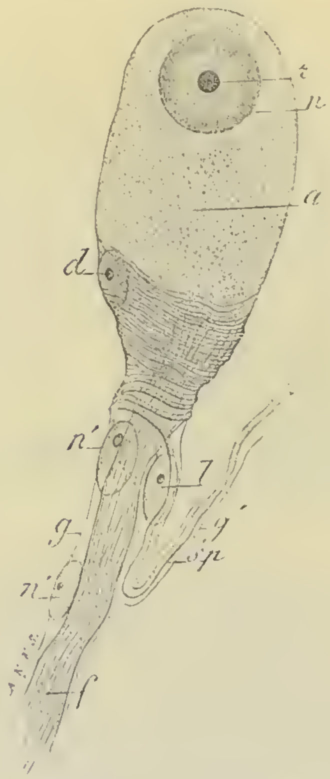


Fig. 298. — Cellule ganglionnaire du pneumogastrique de la grenouille (acide osmique, picrocarminate, glycérine). — *a*, globe ganglionnaire; *n*, noyau; *r*, nucléole; *d*, noyau de la capsule; *f*, fibre droite; *g*, sa gaine de Henle; *n'*, noyau de cette gaine; *sp*, fibre spirale; *g'*, sa gaine; *l*, noyau de cette gaine.

De cette observation il résulte que les cellules sympathiques de la grenouille, aussi bien celles qui sont comprises dans le grand sympathique que celles que l'on observe dans l'intérieur du pneumogastrique, sont des cellules bipolaires ou multipolaires. Cela prend une grande importance si l'on compare ces cellules à celles des ganglions spinaux qui sont toutes unipolaires et dont le prolongement s'unit avec un tube nerveux sensitif pour former un tube en T (voy. p. 547).

Les cellules ganglionnaires qui sont annexées aux nerfs cardiaques au niveau du sinus veineux possèdent des fibres spirales; il en est de même de la plupart de celles qui sont comprises dans la cloison des oreillettes. Cepen-

1. *J. Arnold*, Ueber dei feineren histologischen Verhaeltnisse der Ganglienzellen in dem Sympathicus der Frosches (*Archives de Virchow*, t. XXXII, 1865, p. 1).

dant quelques-unes d'entre elles, surtout celles qui occupent l'épaisseur des cordons nerveux, paraissent être d'une autre espèce. Elles sont fusiformes et émettent des prolongements à chacune de leurs extrémités. Ces dernières cellules dominent dans les ganglions de Bidder.

Dans des préparations d'ensemble de la cloison faites avec de l'acide osmique ou sur des nerfs cardiaques dissociés après l'action de cet acide, on pourra déjà reconnaître la plupart de ces faits; mais, pour les observer d'une manière plus complète, il faut examiner des préparations obtenues au moyen de la méthode de l'or. Ces préparations pourront être utilisées également pour l'étude de la terminaison des nerfs dans le muscle cardiaque.

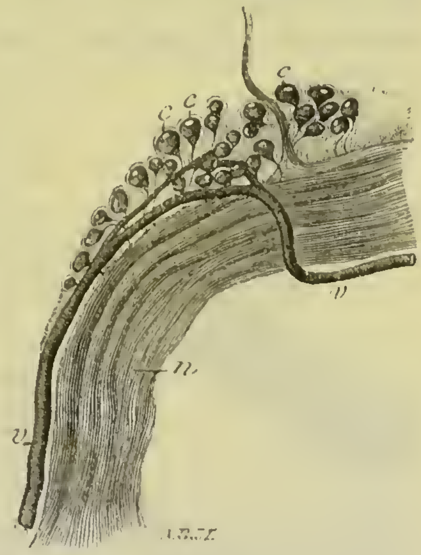


Fig. 299. — Un des nerfs cardiaques au niveau du sinus veineux du cœur de la grenouille verte, imprégné par l'or. — *n*, nerf; *v*, vaisseau sanguin; *c*, cellules ganglionnaires.

C'est en injectant le réactif dans les cavités du cœur qu'il convient de le faire agir sur les nerfs cardiaques et sur leurs ramifications. Pour cela, après avoir lié les veines caves et ouvert l'une des aortes (voy. p. 658), on injecte par ce vaisseau un mélange de quatre parties d'une solution de chlorure d'or à 2 pour 100 et d'une partie d'acide formique, bouilli puis refroidi.

Lorsque les cavités du cœur ont été suffisamment balayées par le passage du liquide injecté qui s'échappe par l'aorte laissée libre, on la ferme par une ligature et l'on continue l'injection jusqu'à ce que les oreillettes soient bien distendues. Une dernière ligature est placée au delà de la canule; le cœur est enlevé et plongé pendant une demi-heure à une heure dans la solution d'or dont on a conservé quelques centimètres cubes, puis il est ouvert dans l'eau distillée, lavé à plusieurs reprises et exposé à la lumière dans un flacon renfermant 50 grammes d'eau distillée et trois gouttes d'acide acétique.

La réduction de l'or s'opère lentement; elle n'est complète qu'au bout de deux ou trois jours. On en juge en examinant à un faible grossissement la cloison des oreillettes après l'avoir complètement dégagée.

Les deux nerfs cardiaques sont alors d'un violet foncé. Les cellules nerveuses se montrent avec leurs globes ganglionnaires également colorés en violet; leur prolongement principal affecte une coloration analogue, mais moins intense; la fibre spiralé, à cause de sa minceur, revêt une teinte plus faible. Les cellules ganglionnaires du sinus veineux sont celles qui montrent les fibres spirales les plus nettes, parce qu'elles sont distantes des nerfs qui les portent et en sont généralement séparées par des vaisseaux sanguins. La coloration de ces fibres par l'or concourt à établir leur nature nerveuse. Ainsi colorées, elles sont bien visibles, surtout lorsque la préparation a été traitée par la glycérine additionnée d'acide formique.

Les fibres spirales constituent un caractère important des cellules sympathiques, mais il n'existe que chez les batraciens anoures. Chez les autres vertébrés, il est difficile, sinon impossible, de déterminer s'il y a dans le cœur des cellules nerveuses de deux espèces. Le lapin cependant fait exception. En effet, les cellules des ganglions sympathiques de cet animal contiennent deux noyaux, tandis qu'il n'y en a qu'un seul dans les cellules cérébro-spinales.

Des recherches récentes, entreprises à mon instigation par M. Vignal, ont établi que chez le lapin, comme chez la grenouille, on observe dans le cœur deux espèces de cellules : les unes, contenant deux noyaux, appartiendraient au système sympathique ; les autres, munies d'un seul noyau, seraient cérébro-spinales.

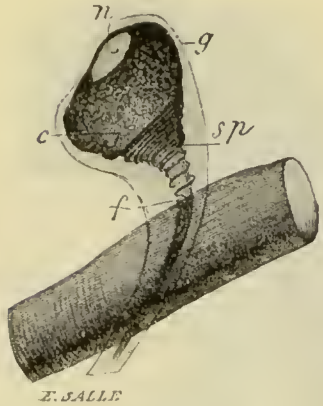


Fig. 500. — Une des cellules ganglionnaires du sinus veineux de la grenouille verte, imprégnée par l'or. — *g*, capsule ; *c*, globe ganglionnaire ; *n*, noyau ; *f*, fibre droite ; *sp*, fibre spirale ; *v*, vaisseau sanguin.

Chez le lapin, comme chez les autres mammifères, les nerfs du cœur, qui proviennent du plexus cardiaque, sont formés en majeure partie de fibres de Remak et cheminent à la surface de l'organe, au-dessous du péricarde viscéral, où ils constituent un plexus à larges mailles.

Pour les observer et en même temps apprécier la situation, le nombre et la structure des ganglions qui leur sont annexés, il faudra, après avoir traité des fragments des oreillettes ou des ventricules, comprenant leur surface externe, par le chlorure d'or et suivant un des procédés indiqués pages 620 et 630, détacher le péricarde viscéral et l'examiner au microscope, sa face profonde étant dirigée en haut.

Dans les oreillettes, c'est surtout au voisinage de l'embouchure des veines et en particulier des veines pulmonaires que se trouvent les ganglions les plus nombreux et les plus étendus.

Chez le lapin, ces ganglions possèdent un grand nombre de cellules nerveuses munies de deux noyaux, tandis que les ganglions annexés aux nerfs cardiaques au niveau du sillon auriculo-ventriculaire et à la partie supérieure des ventricules contiennent des cellules à un seul noyau. Au delà, à partir du tiers supérieur des ventricules, les nerfs, continuant leur trajet, forment un plexus sous le péricarde, mais on n'y trouve plus de cellules ganglionnaires.

Lorsque, au moyen de la méthode de l'or, on a appris à connaître la disposition générale des fibres nerveuses et des ganglions qui les accompagnent, on peut en faire une étude plus complète au moyen d'autres méthodes : De petites portions du cœur, comprenant la surface de l'organe et enlevées dans des régions où l'on sait qu'il existe des ganglions, seront traitées par l'acide osmique et disséquées ensuite sous l'eau en utilisant la loupe, les ciseaux, la pince et les aiguilles, afin d'isoler les rameaux nerveux avec les groupes ganglionnaires qui les avoisinent. On y recon-

naîtra sans difficulté l'existence des cellules à un seul et à deux noyaux[1].

En examinant au microscope la cloison interauriculaire de la grenouille

1. De l'observation microscopique des ganglions du cœur il résulte que, chez les batraciens et chez le lapin, il existe dans cet organe au moins deux espèces de cellules nerveuses. Les unes, qui appartiennent au système sympathique, sont plus abondantes dans les oreillettes; les autres, qui appartiennent au système cérébro-spinal, l'emportent dans les ventricules. Il est facile de montrer que ces deux espèces de cellules ont des propriétés physiologiques différentes. Pour cela, on lie successivement chez une grenouille le bulbe aortique et les trois veines caves; on enlève le cœur, qui continue à battre; on place une ligature sur le sillon auriculo-ventriculaire, et immédiatement au-dessous on fait une section transversale qui sépare les oreillettes du ventricule. Les oreillettes poursuivent leurs battements. Le ventricule, si les ganglions de Bidder ont été enlevés avec lui, continue également à battre. Mais, tandis que les oreillettes conservent leur rythme, celui du ventricule se ralentit peu à peu, et ses mouvements s'arrêtent au bout de quelques instants.

Si l'on irrite alors, au moyen d'un stylet, le ventricule au niveau de l'orifice auriculo-ventriculaire, il reprend son mouvement rythmique; puis ses battements, après s'être ralentis, s'arrêtent de nouveau.

Pendant tout ce temps, les oreillettes et le sinus veineux enlevé avec elles continuent à se contracter rythmiquement avec une grande régularité. Mais si l'on touche le sinus à plusieurs reprises, avec le stylet, leurs battements se ralentissent et, si l'excitation a été assez forte, ils s'arrêtent momentanément.

On réussit toujours à isoler convenablement les oreillettes, mais il arrive souvent que l'on a sectionné le ventricule au-dessous de ses ganglions, et alors il est arrêté d'une manière définitive. Dans ce cas, il faut prendre une seconde grenouille, et après avoir dégagé le cœur sans aucune autre opération préalable, en détacher le ventricule au niveau du sillon, pour le traiter comme il a été dit plus haut.

Cette expérience si simple et qui n'exige aucun appareil spécial est fort instructive. Elle montre d'abord que le cœur complètement isolé contient en lui-même le principe de son activité comme un organisme complet. Cette activité dépend des cellules ganglionnaires, car, lorsque le ventricule est séparé des oreillettes sans emporter avec lui les ganglions de Bidder, il s'arrête immédiatement et pour toujours. Il en est de même et à plus forte raison lorsqu'il est coupé à l'union de son tiers supérieur avec ses deux tiers inférieurs.

Mais toutes les cellules ganglionnaires du cœur ne jouissent pas des mêmes propriétés. Celles qui composent les ganglions de Bidder et qui paraissent appartenir en majeure partie au système cérébro-spinal épuisent bientôt leur action lorsqu'elles ne sont plus en rapport avec les autres. Cela conduit à supposer qu'il leur manque alors une excitation qui leur venait des cellules des oreillettes, et que l'on peut remplacer, l'expérience le prouve, par un excitant artificiel. Il semble qu'elles accumulent l'excitation qui leur est communiquée et la distribuent ensuite suivant les besoins de l'organe qu'elles dirigent. Ce phénomène d'accumulation de l'excitation est certainement un des plus intéressants que l'on connaisse dans l'organisme. Il est probable qu'il se produit dans un grand nombre de départements du système nerveux, et que par suite il a une portée très générale.

On vient de voir que ce sont les cellules ganglionnaires des oreillettes qui envoient aux cellules ganglionnaires du ventricule l'excitation qui leur est nécessaire. Elles sont donc les agents essentiels de l'automatisme du cœur, et cependant lorsqu'on les excite elles produisent l'arrêt de cet organe. Il y a là un paradoxe qui conduirait à supposer qu'il existe dans les oreillettes des cellules excitatrices et des cellules d'arrêt. Mais, comme rien dans l'observation histologique ne vient légitimer une semblable hypothèse, on peut en concevoir une autre et supposer que certaines de ces cellules excitées trop énergiquement agissent sur les autres de manière à déterminer des phénomènes d'interférence nerveuse, comme les a admis Cl. Bernard lorsqu'il a cherché à expliquer l'action vaso-dilatatrice de la corde du tympan. C'est d'une manière analogue qu'agirait l'excitation directe du pneumogastrique, lorsque, à la suite de cette excitation, comme il résulte de la célèbre expérience de Weber, le cœur s'arrête.

Dans les oreillettes de la grenouille, où les cellules à fibres spirales ont des prolongements multiples et sont vraisemblablement en rapport par quelques-uns d'entre eux, on conçoit qu'elles puissent agir les unes sur les autres, et qu'il s'y produise des phénomènes d'interférence tels qu'ils ont été compris par Cl. Bernard. (Voy. *Leçons sur les appareils terminaux des nerfs dans les muscles de la vie organique*, p. 170.)

traitée par le chlorure d'or suivant le procédé décrit page 645, on voit se dégager des nerfs cardiaques de petits cordons nerveux composés de fibres sans myéline, qui se distribuent aux travées musculaires de la cloison et à celles des oreillettes.

Ceux qui sont destinés à la cloison elle-même se divisent, s'anastomosent et se subdivisent jusqu'à donner des fibres très fines qui semblent se terminer à la surface des faisceaux striés. Mais un examen attentif permet de reconnaître qu'elles s'engagent au milieu des éléments qui composent ces faisceaux pour se continuer avec les travées d'un réseau à mailles allongées. Ces travées, extrêmement grêles et d'inégale épaisseur, sont colorées en violet plus ou moins intense et tranchent sur la substance musculaire colorée en violet plus clair.

Les mailles qu'elles limitent ont à peu près les dimensions et la forme des cellules musculaires du cœur de la grenouille ; mais, comme dans les préparations les mieux réussies le contour de ces cellules n'est pas distinct, il est impossible de déterminer si elles sont contenues dans les mailles du réseau nerveux ou traversées suivant leur longueur par les travées de ce réseau. On sera conduit à adopter cette dernière manière de voir par l'observation de certains détails que montrent les cellules du myocarde complètement isolées[1].

Ayant dissocié à l'état frais les fibres musculaires du cœur de différents animaux dans une solution de sel à 5 pour 1000 ou dans l'acide osmique à 1 pour 1000, ou bien dans l'eau après les avoir soumises à l'action de l'acide azotique à 20 pour 100, Langerhans obtint des cellules musculaires isolées ou des fragments de ces cellules desquels se dégageait une fibrille homogène, réfringente, ayant les caractères d'une fibrille nerveuse.

Lorsque, après les avoir laissées séjourner vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, on dissocie avec les aiguilles des fragments du cœur de la tortue (*Testudo mauritanica* ou *Testudo europæa*), on isole sans difficulté un très grand nombre de cellules musculaires dont la forme est bien conservée, mais

1. Après que Kölliker (*Éléments d'histologie humaine*, 2e édition française, p. 749) eut suivi, dans la cloison des oreillettes de la grenouille, les fibres nerveuses jusqu'aux travées musculaires auxquelles elles sont destinées, et que Schweigger-Seidel (*Manuel de Stricker*, p. 188) eut vérifié chez la grenouille et confirmé pour les mammifères les données de Kölliker, Langerhans (*Zur Histologie der Herzens*, in *Archives de Virchow*, t. VIII, 1873, p. 65), à l'aide de procédés variés, arriva à reconnaître dans la cloison interauriculaire de différents batraciens, anoures et urodèles, et dans les oreillettes et les ventricules des mammifères, que les fibres nerveuses, après s'être divisées et subdivisées à la surface ou dans l'épaisseur des faisceaux musculaires, se terminent par des fibrilles extrêmement fines, qui s'attachent aux cellules du myocarde.

Léo Gerlach (*Ueber die Nervenendigungen in der Muskulatur des Froschherzens*, in *Arch. de Virchow*, t. LXVI, 1876, p. 187), en appliquant à la recherche des terminaisons nerveuses du cœur le procédé employé par son père pour l'étude de la terminaison des nerfs dans les muscles striés volontaires (voy. p. 621), observa que, dans la cloison interauriculaire de la grenouille, les fibres nerveuses se continuent avec un réseau compris dans les travées du myocarde, et qui serait l'analogue du réseau intravaginal de J. Gerlach.

Pour compléter cet historique, il convient de rappeler que Krause (*Anatomie des Kaninchens*, Leipzig, 1868, p. 264) a prétendu que dans le cœur du lapin les nerfs se terminent par des plaques motrices.

dont quelques-unes seulement sont munies du prolongement nerveux découvert par Langerhans.

Cependant, comme les cellules du myocarde sont des individualités histologiques et physiologiques au même titre que les faisceaux primitifs des muscles striés volontaires, et que pour former les travées du cœur elles ne sont pas fondues mais simplement soudées les unes aux autres par une substance cimentante, il est logique d'admettre à priori que chacune d'elles doit être en rapport direct avec une fibre motrice. En examinant attentivement avec un bon objectif à immersion ces cellules complètement isolées

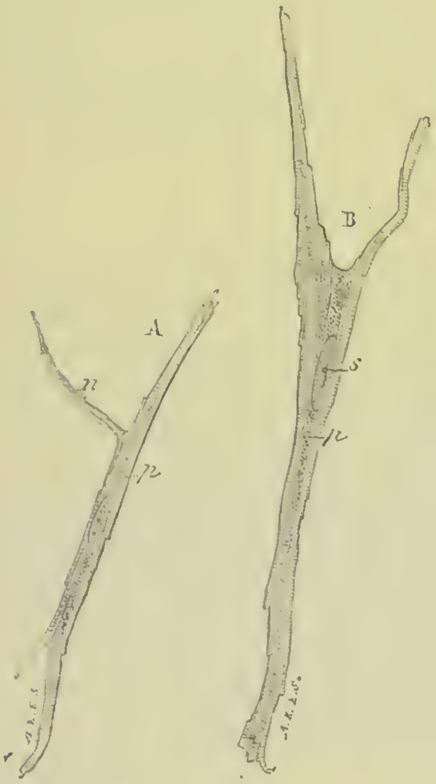


Fig. 501. — Deux cellules du myocarde de la tortue moresque, isolées après l'action de l'alcool au tiers. — A, cellule munie d'un prolongement nerveux *n* ; *p*, masse protoplasmique entourant le noyau. — B, cellule cordiforme située au point de jonction de trois travées musculaires; *p*, protoplasma; *s*, strie médiane.

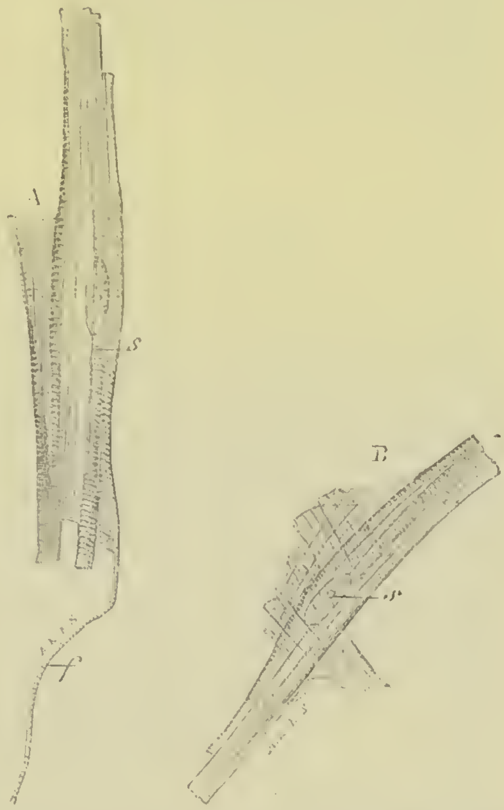


Fig. 502. — Deux cellules du myocarde de l'*Emys europæa*, isolées après l'action de l'alcool au tiers. — A, cellule montrant une strie médiane, *s*; *f*, prolongement musculaire. — B, cellule située au point de jonction de plusieurs travées musculaires; *s*, strie médiane.

après l'action de l'alcool au tiers et colorées par le picrocarminate, il est possible de distinguer dans un certain nombre d'entre elles, au sein de la masse protoplasmique qui occupe leur axe, une strie qui les parcourt suivant leur longueur et qui passe au voisinage de leur noyau.

En rapprochant ces deux observations de celles qui ont été faites au moyen de la méthode de l'or, on doit arriver à conclure : d'une part, que les rares cellules musculaires qui possèdent un prolongement sont celles au niveau desquelles les fibrilles nerveuses pénètrent dans les faisceaux musculaires, et d'autre part, que les stries dont il vient d'être question correspondant

aux travées du réseau décelé par l'or, ces travées sont en réalité contenues dans l'intérieur même des cellules musculaires[1].

Terminaison des nerfs dans les muscles lisses. — L'appareil nerveux terminal des organes composés de fibres musculaires lisses n'est pas le même, suivant que ces organes sont soumis à la volonté ou qu'ils fonctionnent en dehors de son influence.

Chez les mollusques et les annélides il y a des muscles lisses de la vie animale. Les nerfs qui s'y rendent sont dépourvus de myéline. Ils se divisent, se subdivisent et, sans s'être anastomosés, se terminent à la surface des cellules musculaires par une extrémité renflée, souvent digitiforme (*tache motrice*). Il est très facile d'observer ces faits dans le muscle rétracteur du corps de l'escargot commun (*Helix pomatia*) lorsque l'on a traité des fragments de ce muscle par la méthode de l'or, suivant un des procédés indiqués pages 620 et 650.

1. Engelmann (*Ueber die Leitung der Erregung im Herzmuskel*, in *Arch. de Pflüger*. 1875. t. XI. p. 468-470) a soutenu une théorie physiologique d'après laquelle il ne serait pas nécessaire que chaque cellule du myocarde fût en rapport avec une fibre nerveuse. L'excitation motrice communiquée à une de ces cellules pourrait se transmettre de proche en proche, de cellule à cellule, sans qu'il y eût pour cela de conducteur nerveux. Il a construit cette théorie d'après des observations antérieures sur des organes formés de fibres lisses et d'après certaines expériences faites sur le cœur lui-même. Or, on sait aujourd'hui, comme on le verra dans le paragraphe suivant, que chaque cellule musculaire lisse reçoit une terminaison nerveuse, et dès lors il n'est plus nécessaire, pour comprendre les mouvements péristaltiques de l'uretère et de l'intestin, de faire intervenir la transmission des incitations motrices par les éléments musculaires eux-mêmes. On ne saurait donc plus partir de ces observations pour supposer à priori qu'il existe dans le cœur sanguin un mode de transmission analogue.

Les expériences qu'Engelmann a faites sur le cœur pour légitimer sa manière de voir sont ingénieuses et instructives. Voici en quoi elles consistent : après avoir détaché le cœur d'une grenouille, on le place sur une lame de liège; il continue à battre. On fait alors sur le ventricule, un peu au-dessous du sillon auriculo-ventriculaire, une incision transversale qui va jusque tout près du bord opposé. Sur ce bord et un peu au-dessous, on pratique une seconde incision allant jusqu'au voisinage immédiat du bord où l'on avait commencé la première, et on continue ainsi de manière à diviser le cœur en fragments unis par de petits ponts de substance musculaire. Il est nécessaire que toutes ces incisions soient faites franchement, soit avec des ciseaux fins, soit avec un scalpel bien tranchant.

Quelquefois, malgré qu'il ait été ainsi divisé, le ventricule continue à battre, l'incitation motrice se poursuivant de fragment en fragment par les ponts de substance musculaire laissés entre eux. Mais il arrive souvent qu'après l'opération le ventricule est arrêté. Il suffit alors d'attendre quelques instants, en maintenant le cœur à l'abri de la dessiccation sous une cloche formant chambre humide, pour le voir reprendre ses contractions.

Pour expliquer la transmission de l'excitation par les petits ponts musculaires qui relient les divers segments du ventricule, il n'est pas nécessaire d'admettre, avec Engelmann, qu'elle se fait par la substance musculaire elle-même, puisque, comme on vient de le voir, le réseau myocardique contient dans son intérieur un réseau nerveux.

Si, après avoir divisé le ventricule en zigzag, on en retranche la partie supérieure, de manière à le séparer des ganglions de Bidder, il s'arrête définitivement. Mais si on le touche alors avec la pointe d'une aiguille, il donne chaque fois une seule pulsation, et la contraction se poursuit de proche en proche dans tous ses segments.

Ce phénomène se produit aussi bien si l'on excite le ventricule au niveau de sa pointe que si l'on agit sur sa base. Il faut en conclure que le réseau nerveux du myocarde transmet l'incitation motrice dans toutes les directions, en un mot qu'il constitue un véritable réseau et non pas un plexus.

Après réduction du sel d'or, les fragments sont dissociés directement dans l'eau, ou bien ils sont durcis par l'alcool, et l'on y fait des coupes longitudinales ou transversales que l'on place d'abord dans l'eau et que l'on traite ensuite par de la glycérine additionnée d'acide formique.

Il est beaucoup plus difficile d'obtenir de bonnes préparations des muscles volontaires de la sangsue, parce que ces muscles, qui doublent les téguments, sont compris dans un tissu conjonctif résistant et chargé de cellules pigmentaires. Cependant, en faisant agir le chlorure d'or pendant une heure après le jus de citron (voy. p. 620) et lorsque la réduction de l'or est produite, on peut, dans des coupes longitudinales bien réussies, constater que les fibres nerveuses des muscles volontaires de la sangsue se comportent comme celles des muscles volontaires de l'escargot. Elles se divisent et se subdivisent sans s'anastomoser, et se terminent sur les cellules musculaires par des extrémités renflées, ainsi que Hansen[1] l'a constaté.

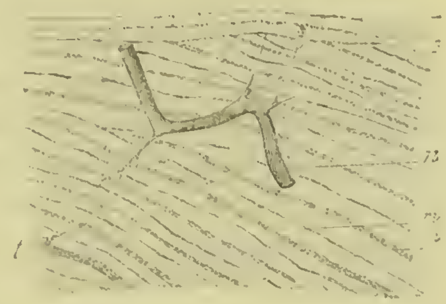


Fig. 505. — Coupe longitudinale du muscle rétracteur du corps de l'escargot, faite après l'action du chlorure d'or. — *m*, cellules musculaires; *p*, cordons protoplasmiques qui en occupent le centre; *n*, nerfs; *t*, tache motrice.

Chez les mêmes animaux, les nerfs des muscles de la vie organique, ceux de l'intestin par exemple, possèdent sur leur trajet, comme les nerfs du cœur des vertébrés, des cellules ganglionnaires. Ils s'anastomosent pour former des plexus et se terminent à la surface des cellules musculaires par des taches motrices semblables à celles des muscles volontaires.

Les culs-de-sac gastriques de la sangsue[2] constituent pour ce genre de recherches d'excellents objets d'étude, parce que les cellules musculaires, qui y forment un réseau à larges mailles, y sont distantes les unes des autres.

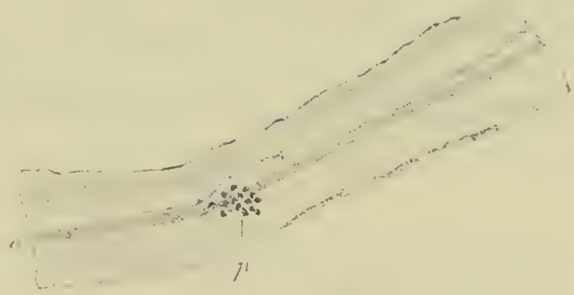


Fig. 504. — Portion d'une cellule musculaire du muscle rétracteur du corps de l'escargot, isolée après l'action du chlorure d'or. — *d*, cordon protoplasmique central; *p*, tache motrice.

Après avoir immobilisé une sangsue par immersion dans l'eau chloroformée, on la tend sur une lame de liège à l'aide d'épingles fixées à ses deux extrémités et, au moyen d'une seringue dont la canule est introduite dans la bouche de l'animal, on injecte dans son estomac du jus de citron fraîchement préparé. Au bout de cinq minutes, la sangsue est ouverte, ses culs-de-sac

1. *J. Armauer Hansen*, Terminaison des nerfs dans les muscles du corps de la sangsue (*Archives de physiologie*, 1881, p. 759).

2. *Gscheidlen*, Beiträge zur Lehre von den Nervenendigungen in der glatten Muskelfasern (*Arch. f. micr. Anatomie*, t. XIV, 1877, p. 321).

gastriques sont détachés et ouverts à leur tour dans l'eau distillée, et, après que l'on a chassé avec le pinceau l'épithélium qui en tapisse la face interne, on les porte dans une solution de chlorure d'or à 1 pour 100, où on les laisse pendant vingt minutes. Après les avoir lavés à l'eau distillée, on les plonge dans une solution d'acide formique au quart, dans laquelle on les maintient à l'obscurité jusqu'au lendemain.

Les cellules musculaires, qui atteignent dans les culs-de-sac gastriques de la sangsue des dimensions colossales, s'y montrent formées d'une partie axile protoplasmique colorée en violet plus ou moins foncé et d'une écorce de substance contractile à peu près incolore. La plupart d'entre elles ont une direction transversale à l'axe des culs-de-sac et, bien qu'elles s'unissent pour constituer un réseau, elles sont à peu près parallèles.

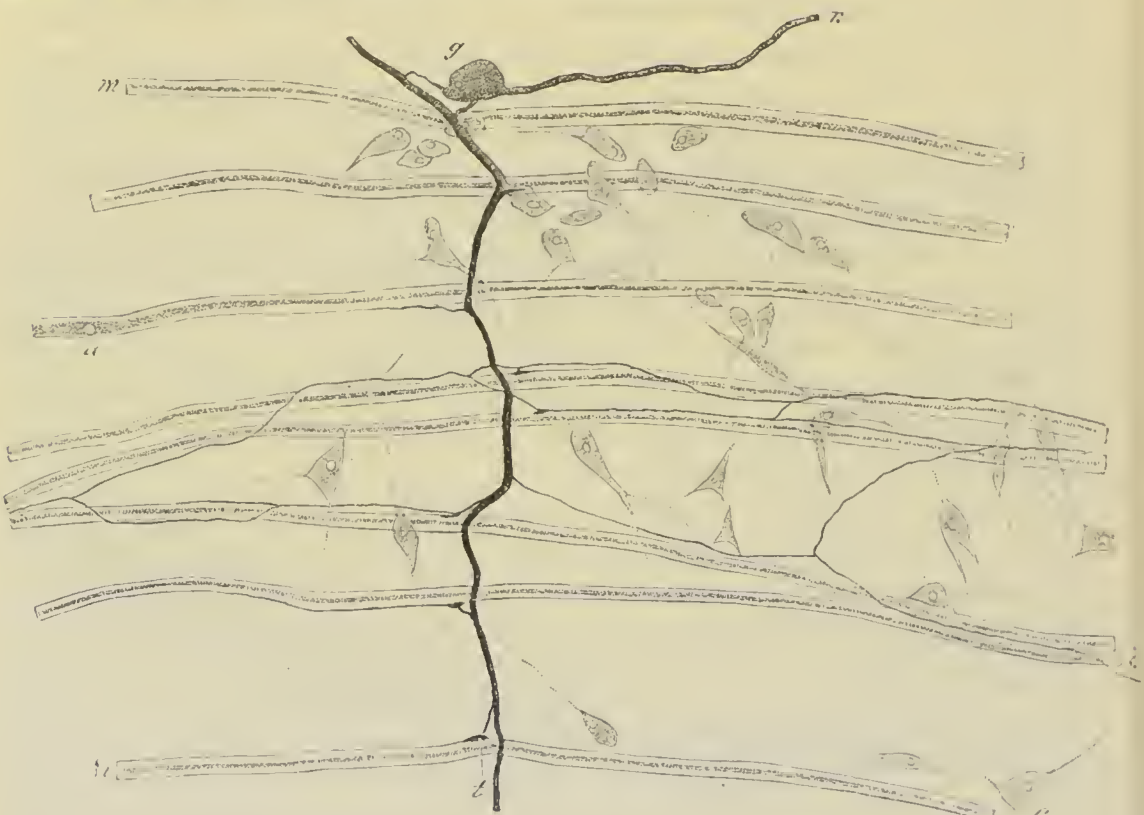


Fig. 505. — Cul-de-sac gastrique de la sangsue, traité par la méthode de l'or. — *m*, cellules musculaires : *a*, noyau de l'une de ces cellules ; *n*, nerf ; *g*, cellule ganglionnaire ; *t*, tache motrice ; *c*, cellule connective.

Les troncs nerveux principaux, qui les croisent perpendiculairement à leur direction, sont colorés en violet foncé et portent appendues à leurs côtés ou situées sur leur trajet des cellules ganglionnaires également colorées, unipolaires ou multipolaires, et présentant les dimensions les plus variées. De ces troncs nerveux se dégagent des fibres qui se dirigent plus ou moins obliquement vers les cellules musculaires et qui, après avoir fourni un embranchement, le plus souvent extrêmement court, portant une tache motrice, continuent leur trajet en longeant les bords de ces cellules et finissent par s'anastomoser les unes avec les autres.

Chez les vertébrés, les muscles lisses, appartenant tous à la vie organique,

possèdent un appareil nerveux qui se rapproche de celui des culs-de-sac gastriques de la sangsue, en ce sens qu'avant de se terminer les fibres nerveuses s'anastomosent et forment des plexus plus ou moins nombreux, plus ou moins compliqués.

Dans la vessie de la grenouille, Klebs[1] a distingué un plexus fondamental muni de cellules ganglionnaires et siégeant à la base de cet organe, un plexus intermédiaire formé par des fibres qui, partant du plexus fondamental, couvrent de leurs ramifications anastomotiques la vessie tout entière, enfin, un plexus intramusculaire dont les fibres extrêmement fines, provenant du plexus intermédiaire, sont logées entre les cellules musculaires elles-mêmes.

Ces faits, que l'on constate difficilement en employant les réactifs indiqués par Klebs (acides faibles), seront aisément reconnus au moyen de la méthode de l'or. Déjà, par le procédé que Löwit a imaginé à cet effet, il est facile de retrouver les différents plexus et de faire une bonne observation du plexus intra-musculaire.

On obtient de meilleurs résultats en employant un des procédés décrits pages 620 et 650. Une grenouille verte étant immobilisée par la destruction de la moelle épinière, on pratique à la peau, au niveau du sacrum, une incision transversale : saisissant alors avec une pince la lèvre inférieure de cette incision, on dégage le cloaque en ayant bien soin de ne pas l'entamer, et on le lie aussi bas que possible ; puis, après avoir ouvert largement la cavité abdominale, on fait au rectum une petite incision longitudinale par laquelle on introduit la canule d'une seringue remplie, soit de la solution d'or, soit du jus de citron, suivant le procédé que l'on a choisi. Le liquide pénètre d'abord dans le rectum, puis, s'engageant à travers l'orifice cloacal de la vessie, il la distend au gré de l'opérateur. Pour terminer la préparation, on devra suivre exactement les indications qui ont été données à propos de la cloison interauriculaire de la grenouille (voy. p. 645).

Le plexus intramusculaire s'y montre nettement et, ainsi que Löwit[2] l'a déjà indiqué, ses travées paraissent un peu épaissies et adhérentes aux éléments musculaires au niveau de leurs noyaux. Ces portions épaissies sont des taches motrices à pédicule extrêmement court.

La disposition du plexus intramusculaire est la même dans l'intestin de la grenouille, du lapin et des vertébrés en général. Pour l'observer et en même temps faire l'étude du plexus fondamental, plexus myentérique ou d'Auerbach, il suffit de plonger pendant cinq minutes un segment d'intestin grêle dans du jus de citron, puis de le maintenir pendant vingt à trente minutes dans une solution de chlorure d'or à 1 pour 100 et de déterminer la réduction du sel métallique dans l'acide formique au quart. Vingt-quatre heures après, il sera facile de séparer le feuillet intestinal du péritoine avec les deux couches de la musculeuse entre lesquelles se trouve le plexus d'Auerbach.

1. *Klebs*, Die Nerven der organischen Muskelfasern (*Arch. de Virchow*, t. XXXII, p. 168).

2. *Löwit*, Die Nerven der glatten Muskulatur (*Acad. des sciences de Vienne*, 3e section, t. LXXI, 1875).

dont les principales travées et les points nodaux munis de cellules ganglionnaires sont colorés en violet plus ou moins foncé.

De ces travées, se dégagent des fibres qui forment, à l'intérieur des mailles du plexus fondamental, un deuxième plexus sans cellules ganglionnaires, et enfin dans l'épaisseur des lames musculaires se montre le troisième plexus, plexus intramusculaire.

Les vaisseaux sanguins possèdent, chez les différents vertébrés, une grande quantité de nerfs, que l'on met facilement en évidence au moyen de la méthode de l'or dans les membranes vasculaires (mésentère de la grenouille, mésentère et grand épiploon du lapin, etc.) et dans la plupart des organes, en suivant les procédés déjà indiqués pages 620 et 650.

La durée de l'immersion dans le chlorure d'or devra varier suivant l'épaisseur et un peu aussi suivant la nature de l'organe. C'est ainsi que, pour la peau de l'homme, on arrivera au meilleur résultat en faisant agir ce réactif sur de petits fragments pendant une heure et demie. Prolongée au delà de ces limites, la réaction heureuse de l'or ne se produit plus, au moins dans la plupart des cas.

Les membranes vasculaires seront examinées à plat dans la glycérine additionnée d'acide formique; les autres organes seront étudiés sur des coupes faites après durcissement par l'alcool et traitées également par la glycérine additionnée d'acide formique.

Les nerfs des artères et des veines, constitués par des tubes nerveux à myéline et des fibres sans myéline, accompagnent d'abord ces vaisseaux dans leur trajet et s'anastomosent dans leur adventice pour former un premier plexus à mailles larges et très inégales, plexus fondamental. Puis, à la surface externe de la tunique musculaire, ils se résolvent en un plexus à mailles étroites et assez régulières, plexus intermédiaire, qui jadis a été assez bien décrit par His[1] d'après des préparations à l'acide acétique, et que cet auteur a pris pour un réseau terminal.

Le vrai plexus terminal ou plexus intramusculaire est formé de fibres beaucoup plus fines qui se dégagent du plexus intermédiaire et qui très probablement fournissent des taches motrices aux cellules contractiles de la tunique musculaire.

Sur les travées et aux points nodaux du plexus intermédiaire il y a des noyaux qui n'appartiennent pas à des cellules ganglionnaires. Ils correspondent à ceux que l'on observe dans les fibres de Remak (voy. p. 574) et que l'on considère comme étant de nature connective.

Le plexus fondamental, dans la constitution duquel il entre un nombre variable de fibres à myéline, ne contient pas non plus de cellules ganglionnaires. Cependant, comme la tunique contractile des vaisseaux présente des mouvements rythmiques, ainsi qu'on le constate facilement en étudiant au microscope le mésentère, la langue ou la membrane interdigitale de la grenouille, ou simplement en examinant à contre-jour les vaisseaux de l'oreille

1. *His*, Ueber die Endigung der Gefässnerven (*Archives de Virchow*, t. XXVIII, 1863, p. 427).

du lapin (Schiff), les nerfs vasculaires doivent être en rapport avec des cellules qui leur fournissent l'incitation motrice. Mais il n'est pas nécessaire que ces cellules se trouvent dans les plexus nerveux des vaisseaux eux-mêmes, il suffit qu'elles existent dans un point quelconque du trajet des nerfs vasculaires, par exemple lorsqu'ils sont encore compris dans les cordons ou dans les renflements ganglionnaires du grand sympathique[1].

1. Les histologistes, qui jusqu'à présent se sont occupés de la terminaison des nerfs dans les muscles lisses, ne se sont pas entendus sur la manière dont se fait cette terminaison.

Les uns, dont l'attention a été attirée principalement par le plexus intramusculaire, ont pensé que ce plexus correspondait à une véritable terminaison nerveuse (Klebs, Arnold, Löwit, Gscheidlen). Cependant il convient de rappeler que Klebs (*loc. cit.*, voy. p. 651) dit avoir vu quelquefois une fibre nerveuse s'attacher à une cellule musculaire, et que Löwit (*loc. cit.*, voy. p. 651) et Gscheidlen (*loc. cit.*, voy. p. 649) ont indiqué qu'en certains points les travées du plexus intramusculaire affectent avec les cellules contractiles une union intime. Quant à Arnold, l'opinion qu'il a soutenue (*Gewebe der organischen Muskeln, Manuel de Stricker*, p. 157) est la plus originale. D'après lui, les fibres nerveuses du plexus intra-musculaire traverseraient les fibres-cellules et leurs noyaux.

D'autres histologistes, Trinchese (*Mémoire sur la terminaison périphérique des nerfs moteurs dans la série animale*, in *Journal de l'anatomie et de la physiologie*, t. IV, 1867, p. 485), Frankenhaeuser (*Die Nerven der Gebärmutter und ihre Endigung in den glatten Muskelfasern*, Iéna, 1867), Hénocque (*Du mode de distribution et de terminaison des nerfs dans les muscles lisses*, Paris, 1870) et Elischer (*Beitraege zur feineren Anatomie des Uterus*, in *Arch. für Gynaekologie*, 1876, t. IX, p. 10) ont admis que les nerfs se terminent dans les muscles lisses par des extrémités libres.

Dans les muscles volontaires des gastéropodes, Trinchese a vu les fibres nerveuses s'attacher aux cellules musculaires au voisinage de leur noyau, puis pénétrer dans leur intérieur et s'y bifurquer pour se terminer près de leurs extrémités ; il a pris ainsi pour une terminaison nerveuse l'axe protoplasmique que possèdent les cellules musculaires chez les différents mollusques et chez les annélides.

Dans le ligament large des lapines pleines, traité par le vinaigre de bois, Frankenhaeuser a cru reconnaître que les fibres nerveuses se terminent dans les noyaux des cellules musculaires par de petits renflements qui ne seraient autre chose que des nucléoles.

Hénocque, ayant étudié, à l'aide de la méthode de l'or et au moyen du vinaigre de bois, les muscles lisses de divers organes chez différents animaux, est arrivé à la conclusion que la terminaison des nerfs s'y fait dans la substance contractile des cellules musculaires par des extrémités libres en forme de boutons.

Enfin, Elischer a soutenu que la terminaison des nerfs se fait dans les noyaux des cellules contractiles, comme l'avait dit Frankenhaeuser, mais qu'elle ne correspond pas au nucléole. Les boutons terminaux, distincts de ces derniers, seraient situés dans leur voisinage.

Les divergences d'opinion qui ont régné jusque dans ces derniers temps sur la terminaison des nerfs dans les muscles lisses tiennent à ce que les auteurs n'ont guère étudié cette terminaison que chez les vertébrés. Or, chez ces animaux, les cellules musculaires sont trop serrées les unes contre les autres pour que les taches motrices soient faciles à découvrir. D'un autre côté, comme tous leurs muscles lisses appartiennent à la vie organique, les nerfs y affectent par ce fait même une disposition plexiforme. Pour reconnaître leur véritable terminaison, il était nécessaire d'examiner certains muscles des invertébrés où les cellules musculaires sont plus écartées, et en même temps de comparer les terminaisons nerveuses dans les muscles lisses volontaires et dans ceux qui ne sont pas soumis directement à l'influence de la volonté.

CHAPITRE XIX

TERMINAISONS NERVEUSES SENSITIVES

On désigne sous le nom de nerfs sensitifs ceux qui transmettent aux centres nerveux des impressions produites à la périphérie. De ces impressions, les unes sont relatives à la sensibilité générale, les autres ont un caractère tout spécial (tact, goût, olfaction, vue, audition).

Les sensations spéciales dépendent d'organes terminaux dont la structure présente pour chacun d'eux des caractères particuliers qui se poursuivent dans un grand nombre d'espèces d'animaux. Les sensations générales, au contraire, celles qui sont relatives, par exemple, à la température, à la douleur et même au tact dans une certaine mesure, ne paraissent pas être en rapport avec les organes spéciaux.

Parmi les terminaisons nerveuses de la sensibilité générale, les mieux connues et les plus faciles à étudier sont celles de la cornée.

CORNÉE

La cornée fait partie des téguments; l'épithélium qui la recouvre est une dépendance de feuillet ectodermique. Sa charpente connective et ses membranes basales antérieure et postérieure se développent, ainsi que son épithélium postérieur, aux dépens du feuillet moyen du blastoderme. Elle possède un très grand nombre de filets nerveux qui lui viennent du trijumeau, nerf qui préside à la sensibilité générale de la plus grande partie de la tête et des organes qui y sont compris.

Avant d'aborder l'étude des nerfs de la cornée, il importe de connaître la charpente connective et les couches épithéliales de cette membrane.

On devra employer d'abord la méthode des coupes après dessiccation, telle qu'elle a été indiquée à propos des artères et des veines (voy. p. 427). La cornée de l'homme, du bœuf, du chien, etc., sera détachée et incisée sur ses bords de manière qu'on puisse l'étaler et la fixer sur une lame de liège. Les coupes, faites suivant un de ces méridiens, seront gonflées par l'eau, colorées par le picrocarminate, lavées et montées en préparation dans de la glycérine additionnée d'acide formique.

Les membranes basales antérieure et postérieure et la charpente connective proprement dite s'y montreront nettement; il n'en sera pas de même des couches épithéliales que l'on devra examiner dans des préparations faites à l'aide d'autres méthodes.

La membrane basale antérieure, ou membrane de Bowman, a dans la série des vertébrés une épaisseur très variable. Bien développée chez l'homme, elle est à peine distincte chez le lapin et le cochon d'Inde, tandis que chez les plagiostomes, la raie, le chien de mer, etc., elle acquiert sa plus grande épaisseur. Elle paraît homogène; colorée en rose par le picrocarminate, elle

conserve cette coloration dans la glycérine additionnée d'acide formique ou d'acide acétique.

La membrane basale postérieure, ou membrane de Descemet, d'une grande minceur chez les plagiostomes, est relativement épaisse chez la plupart des mammifères. Elle se colore en rouge orangé par le picrocarminate et en bleu par l'hématoxyline. Il faut l'étudier d'abord chez le bœuf ou le cheval, où son épaisseur est assez grande pour qu'on puisse facilement en détacher des lambeaux qui s'enroulent sur eux-mêmes. Ces lambeaux, soumis à l'ébullition prolongée dans l'eau pendant vingt-quatre ou trente-six heures, se décomposent suivant leur épaisseur, ainsi que Henle[1] l'a signalé, en lamelles extrêmement minces. Cette réaction montre que la membrane de Descemet est formée d'un grand nombre de feuillets superposés.

Dans les coupes faites comme il a été dit plus haut, la charpente connective de la cornée paraît composée de lames, parallèles dans les couches profondes, plus ou moins obliques et entre-croisées dans les superficielles. Ces lames, qui sont incolores, sont séparées les unes des autres par des bandes minces colorées en rouge et dans lesquelles sont compris des corpuscules de Toynbee, corpuscules de la cornée, cellules plasmatiques, *cellules fixes*.

Chez les raies et chez les autres plagiostomes, les lames cornéennes sont toutes régulièrement parallèles et sont traversées perpendiculairement à leur surface par des fibres cylindriques qui partent de la membrane basale antérieure et s'étendent jusqu'à la postérieure. Ces fibres, *fibres suturales*[2], se colorent en rose par le carmin et conservent cette coloration dans la glycérine additionnée d'acide formique; elles diffèrent par cette réaction et des fibres connectives et des fibres élastiques. Elles sont les analogues des fibres annulaires et des fibres spirales de Henle (voy. p. 275). Comme elles ont les mêmes réactions que la membrane basale antérieure dont elles sont manifestement une dépendance, il en résulte qu'elles constituent avec elle un système semblable à celui qui, sous la forme de fibres et de membranes, enveloppe les faisceaux du tissu conjonctif ordinaire.

Chez l'homme et chez les principaux mammifères, il existe des fibres semblables aux fibres suturales des plagiostomes. Seulement elles ne traversent pas directement la cornée dans toute son épaisseur. On les voit également partir de la membrane de Bowman; mais leur trajet est très irrégulier, et dans les coupes on en aperçoit seulement quelques portions diversement orientées, soit entre les lames cornéennes, soit dans leur intérieur.

Les lames cornéennes elles-mêmes paraissent homogènes ou vaguement granuleuses. Cependant elles sont constituées par des fibres. Si l'on ne distingue pas ces fibres dans les coupes faites après dessiccation et soumises à l'action de l'eau, c'est qu'elles s'y gonflent et que, s'appliquant exactement les unes contre les autres, elles forment ainsi un milieu homogène. C'est là, soit dit en passant, la raison pour laquelle la cornée possède une transparence si parfaite.

1. *Henle*, Handbuch der systematischen Anatomie, 1866, t. II, p. 605.

2. *Leçons sur la cornée*, p. 158.

Pour mettre en évidence la structure fibrillaire de la cornée, il faut en soumettre un segment à l'action des vapeurs d'acide osmique en le suspendant au moyen d'une épingle à la face inférieure d'un bouchon de liège formant un petit flacon dans lequel on a versé quelques gouttes d'une solution de ce réactif. On y pratique des coupes, après avoir complété le durcissement par l'alcool. Ces coupes, que l'on fait perpendiculairement à la surface et suivant un des méridiens de la membrane, doivent être examinées dans l'eau à un grossissement de 500 à 600 diamètres. On y voit se succéder régulièrement des lames sectionnées perpendiculairement et des lames sectionnées parallèlement à la direction des fibres qui les composent. Les premières montrent une série de champs polygonaux granuleux, d'étude variable, correspondant à des faisceaux de fibrilles. Les secondes paraissent striées suivant leur longueur.

On peut isoler les faisceaux et les fibrilles des lames cornéennes en les dissociant dans l'eau au moyen des aiguilles après l'action des vapeurs d'acide osmique. Ces éléments sont semblables aux faisceaux et aux fibrilles du tissu conjonctif (voy. p. 275).

Il est important de savoir que les fibres d'une lame sont orientées de manière à former avec celles des lames voisines des angles à peu près droits. C'est à cette orientation qu'il faut attribuer les images fournies par une coupe transversale de la cornée observée à la lumière polarisée. Lorsque l'axe de cette coupe fait un angle de 45 degrés avec les plans de polarisation, les lames qui sont sectionnées suivant la direction de leurs fibres sont lumineuses, tandis que les autres sont obscures.

La connaissance des fibrilles et des faisceaux qui composent les lames cornéennes est indispensable pour comprendre la forme et les rapports des cellules migratrices de la cornée et le trajet des nerfs qu'elle contient, aussi bien que pour se rendre compte de la signification des tubes de Bowman.

Les tubes de Bowman sont des produits artificiels dont on détermine la formation avec la plus grande facilité dans la cornée du bœuf et du cheval en y faisant, au moyen d'une seringue hypodermique munie d'une canule à extrémité tranchante, une injection interstitielle d'air, d'essence de térébenthine, d'huile ou de tout autre liquide non miscible à l'eau.

Dès que la pression est suffisante, on voit partir de la pointe de la canule des traînées rectilignes en nombre variable qui simulent des fentes de fracture dans une lame de glace. Celles qui sont comprises dans un même plan sont parallèles ou légèrement divergentes. Si, comme il arrive d'habitude, il s'en produit dans deux plans superposés, elles se croisent à peu près perpendiculairement, comme les fibres des lames correspondantes. C'est en effet dans l'épaisseur de ces lames que la substance injectée pénètre et se répand, en suivant la direction des fibres qui les constituent et en les écartant les unes des autres comme elle écarte les tubes à myéline dans les injections interstitielles des faisceaux nerveux (voy. p. 590).

Pour s'en assurer, il faut, après avoir injecté de l'air dans une cornée de bœuf, la fixer par les vapeurs d'acide osmique et y pratiquer ensuite des

coupes perpendiculaires à la direction des tubes de Bowman. A chacun de ces tubes correspond un espace circulaire ou elliptique compris dans l'épaisseur d'une lame dont les fibres sont coupées transversalement.

Les cellules fixes de la cornée, qui ne sont autre chose que des cellules connectives, sont comprises entre les lames cornéennes, comme les cellules du tissu conjonctif diffus entre les faisceaux primitifs de ce tissu. Elles n'occupent jamais l'épaisseur des lames, ainsi qu'on peut facilement le reconnaître sur les coupes transversales faites après dessiccation (voy. p. 654).

Ces cellules sont plates et anastomosées les unes avec les autres par leurs prolongements. Leur forme et leur étendue varient beaucoup suivant les animaux. Au moyen du nitrate d'argent, on en obtient des images positives ou négatives suivant la manière dont on fait agir le réactif.

Pour produire des images négatives des cellules fixes, le procédé le plus simple consiste à passer le crayon de nitrate d'argent sur la face antérieure de la cornée en place. L'œil étant ensuite mis dans l'eau distillée, la cornée est détachée avec des ciseaux, son épithélium est enlevé par le raclage pratiqué au moyen du scalpel, ses bords sont incisés, et elle est disposée à plat sur une lame de verre. Si elle est assez mince, comme chez la grenouille, les autres batraciens anoures et urodèles, les reptiles, la plupart des oiseaux et les petits mammifères, elle peut être examinée telle quelle. Mais il s'agit de la cornée de l'homme, du chien, du bœuf ou du cheval, il est nécessaire, pour en obtenir des préparations démonstratives, de la diviser, soit en y faisant des coupes parallèles à la surface, soit en en détachant quelques lames au moyen des pinces. Cette dernière opération se pratique dans l'eau et ne présente pas de difficultés sérieuses.



Fig. 506. — Cornée de la grenouille verte, imprégnée négativement par le nitrate d'argent. — *a*, espaces ménagés en clair, correspondant aux cellules; *m*, substance intercellulaire.

Dans ces préparations, les cellules fixes sont ménagées en clair sur un fond d'un brun plus ou moins foncé, correspondant à la substance intercellulaire imprégnée par le sel métallique. Ce fond n'est pas uniformément coloré; sa teinte se renforce dans le voisinage des cellules, de telle sorte qu'elles paraissent cernées d'une bordure plus foncée, qui peut aller jusqu'au noir. Leurs prolongements anastomotiques sont également ménagés par le nitrate d'argent; mais comme ils ont, les plus étroits surtout, une épaisseur moindre que le corps cellulaire, ils paraissent moins blancs[1].

1. Les imprégnations négatives ont été obtenues d'abord par Coccius en passant le crayon de nitrate d'argent à la surface de la cornée. Plus tard, His (*Ueber das Verhalten des salpetersauren Silberoxyds zu thierischen Bestandtheilen*, in *Archives de Virchow*.

Dans la couche profonde de la cornée de quelques animaux, les jeunes chats principalement, ainsi que l'a fait remarquer Hoyer[1], il n'y a pas fusion complète des prolongements cellulaires. Le nitrate d'argent y dessine des lignes noires plus ou moins sinueuses, analogues à celles qu'il détermine entre les cellules d'un endothélium. C'est là un fait intéressant, parce qu'il montre que les cellules fixes de la cornée, fusionnées d'ordinaire par leurs prolongements, peuvent cependant quelquefois conserver leur individualité. Elles se trouvent ainsi former la transition entre les cellules plates du tissu conjonctif et les cellules endothéliales.

Pour obtenir des images positives des cellules fixes, le moyen le plus simple est de faire macérer deux ou trois jours dans de l'eau distillée une cornée dans laquelle on a déterminé d'abord une imprégnation négative. Les espaces intercellulaires sont alors devenus incolores, tandis que les cellules sont remplies d'un précipité granuleux plus ou moins fin ; elles sont admirablement dessinées et donnent des images nettes et élégantes[2].

Les préparations les plus démonstratives des cellules fixes sont fournies par le chlorure d'or. Ce réactif ne produit que des imprégnations positives; il colore le corps cellulaire et ses prolongements en violet plus ou moins intense, tandis que la substance fibrillaire de la cornée demeure incolore ou n'est que faiblement colorée. On peut obtenir ce résultat en employant ou bien le procédé de Cohnheim, qui consiste à plonger la cornée détachée dans

t. XX, p. 207) et Recklinghausen (*Archives de Virchow*, 1860, t. XIX, p. 451. Cf. *Die Lymphgefässe und ihre Beziehung zum Bindegewebe*. Leipzig, 1862), qui les ont produites aussi au moyen du sel en solution, se sont engagés dans une discussion assez vive à leur sujet. His, qui admettait dans la cornée l'existence de cellules creuses réunies par des canaux (système plasmatique de Virchow), soutenait que le nitrate d'argent déterminait un précipité entre ces cellules. Recklinghausen, qui avait adopté en partie la définition de la cellule récemment introduite par M. Schultze, croyait bien que le dépôt d'argent ménageait des espaces creux, mais il pensait que ces espaces n'étaient pas des cellules, et que les véritables éléments cellulaires, formés d'une masse protoplasmique pleine, y étaient simplement renfermés. Il fut conduit ainsi à admettre que dans la cornée et dans les autres organes du système conjonctif il existait des lacunes et des canaux creusés dans la substance fondamentale, servant à la circulation du plasma et dans lesquels les cellules étaient contenues.

Mais aujourd'hui on sait d'une façon indiscutable que c'est surtout le protoplasma cellulaire que le nitrate d'argent réserve dans les tissus. Quant aux cavités qui y sont creusées, loin de les ménager comme le croyait Recklinghausen, il s'y réduit au contraire, lorsqu'elles contiennent du plasma ou de l'albumine plasmatique, en donnant de l'albuminate et du chlorure d'argent.

Si, dans la cornée, les cellules et leurs prolongements sont cernés d'un liséré plus foncé que le reste du fond sur lequel elles se détachent, cela tient à ce que, comprises entre deux lames cornéennes, elles les écartent en laissant tout autour d'elles un petit espace qui est nécessairement rempli de plasma.

1. *Hoyer*, Ein Beitrag zur Histologie bindegewebiger Gebilde (*Archives de Müller*, 1865, p. 204).

2. C'est His (*Ueber die Einwirkung des salpetersauren Silberoxyds auf die Hornhaut. Schweizerische Zeitschrift für Heilkunde*, t. II, 1862) qui a obtenu le premier des images positives des cellules de la cornée en cautérisant cette membrane avec le crayon de nitrate d'argent et en la laissant en place, sur l'animal vivant, pendant deux ou trois jours avant d'en faire des préparations, ou bien en traitant par une solution diluée de chlorure de sodium ou d'acide chlorhydrique une cornée à laquelle il avait fait subir une imprégnation négative.

une solution de chlorure d'or à 1 pour 200 et à l'exposer ensuite à la lumière du jour dans de l'eau légèrement acétifiée, ou bien l'un des procédés déjà décrits à propos de la terminaison des nerfs dans les muscles (voy. p. 620 et 650). Mais le meilleur consiste à soumettre la cornée détachée à l'action du jus de citron pendant cinq minutes, à la porter ensuite pendant un quart d'heure environ dans une solution de chlorure double d'or et de potassium à 1 pour 100, et à obtenir la réduction à la lumière du jour dans de l'eau acétifiée.

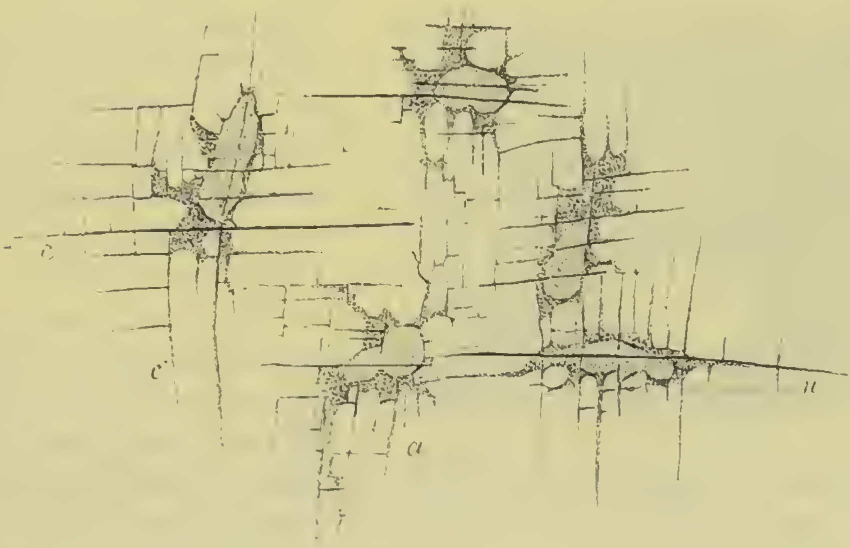


Fig. 507. — Cornée de la grenouille verte, traitée successivement par le jus de citron et le chlorure double d'or et de potassium. — *a*, protoplasma cellulaire ; *c*, crêtes d'empreinte ; *n*, noyau.

Quel que soit celui des procédés auquel on a recours, il importe que le séjour de la membrane dans la solution d'or ne soit pas trop long. Au delà d'une certaine limite, qui paraît varier suivant l'épaisseur de la cornée, le procédé que l'on a choisi et la température extérieure, mais qui, en général, ne dépasse pas vingt-cinq minutes, l'imprégnation porte seulement sur les nerfs, et les cellules fixes ne sont plus colorées que d'une façon incomplète.

Dans ces préparations, qui sont les meilleures pour apprécier la forme, l'étendue et les détails de structure des cellules cornéennes, on reconnaît qu'elles sont très différentes dans les diverses espèces animales. Elles s'y montrent sous deux formes principales : celle de corpuscules étoilés à prolongements minces et ramifiés, analogues aux corpuscules osseux ; et celle de lames membraneuses étendues dont les prolongements sont pour la plupart larges et aplatis.

Les cellules de la cornée appartiennent au type corpusculaire chez la grenouille, le lézard, le bœuf, le cheval, le pigeon, tandis que chez le triton, l'homme, le chien, le lapin, le rat, etc., elles sont du type membraniforme[1].

1. Lorsque l'on cherche à produire des tubes de Bowman dans une cornée dont les cellules appartiennent au type membraniforme, chez le chien ou le rat par exemple, en faisant une injection interstitielle d'air ou mieux encore d'un liquide coloré (du bleu de Prusse ou de l'orcanette dissoute dans l'essence de térébenthine), on voit la matière injectée se répandre en nappe au lieu de former de longues traînées rectilignes comme dans la cornée du cheval ou du bœuf. Si, après avoir injecté convenablement la cornée avec du bleu de Prusse et l'avoir durcie dans l'alcool, on y pratique des coupes parallèles

Les cellules fixes de la cornée, de même que celles des membranes aponévrotiques (voy. p. 292), prennent l'empreinte des lames entre lesquelles elles sont comprises. Comme on l'a vu plus haut, ces lames sont constituées par de petits faisceaux de fibrilles qui laissent entre eux des fentes parallèles à leur direction. Le protoplasma cellulaire s'engage plus ou moins profondément dans l'intérieur de ces fentes pour former des crêtes d'empreinte. Or, comme les fibres constitutives de deux lames cornéennes superposées se croisent suivant des angles à peu près droits, il en résulte que les crêtes d'empreinte de la face supérieure d'une cellule ont une direction à peu près perpendiculaire à celle des crêtes de sa face inférieure.

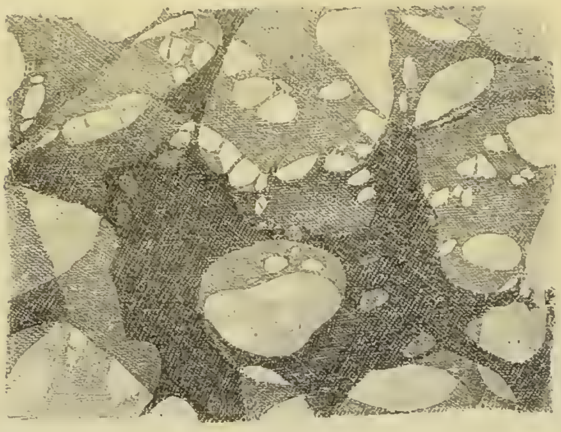


Fig. 508. — Cellules fixes de la cornée du rat albinos, imprégnées par l'or après l'action du jus de citron.

Chez la grenouille et en général chez les animaux dont la cornée possède des cellules du type corpusculaire, les prolongements primaires et secondaires des cellules fixes affectent presque tous la même direction que les crêtes d'empreinte, et par conséquent se croisent à angle à peu près droit. C'est ce qui donne à ces cellules un aspect régulier tout à fait caractéristique (fig. 507).

Il n'en est pas de même dans les cornées dont les cellules sont franchement membraniformes, celle du rat par exemple (fig. 508). Ces cellules constituent un réseau dont les mailles sont arrondies et dont les travées rubanées ont une direction tout à fait différente de celles des crêtes d'empreinte que l'on voit à leur surface.

Pour suivre les crêtes d'empreinte et reconnaître leurs rapports réciproques dans une cornée convenablement dorée et vue à plat, il faut l'examiner avec soin à l'aide d'un objectif à grand angle d'ouverture. Mais, si l'on veut bien apprécier leur hauteur et leurs rapports avec les lames de la cornée, il est nécessaire d'en faire l'étude sur des coupes méridiennes de cette membrane durcie dans l'alcool après imprégnation convenable par le chlorure d'or. Les crêtes d'empreinte partent du corps cellulaire, pénètrent plus ou moins dans

à la surface, on peut y observer, surtout à la limite des régions injectées, que la matière colorée dessine un réseau correspondant exactement à celui que forment les cellules fixes. Ce résultat si remarquable, et que l'on obtient avec la plus grande facilité, pourrait faire croire à l'existence de canaux du suc tels que les admettait Recklinghausen. Mais, ainsi que l'a déjà fait remarquer C. F. Müller (*Histologische Untersuchungen über die Cornea* in *Archives de Virchow*, 1878, t. XLI, p. 110), il prouve simplement que, pour recevoir entre elles la masse injectée, les lames de la cornée se séparent plus facilement au niveau des cellules fixes que dans le reste de leur étendue. En effet, en observant des points plus rapprochés du centre de l'îlot injecté, où la pression a été un peu plus forte, on voit les travées du réseau colorées en bleu s'élargir progressivement et finalement se confondre en formant une nappe continue entre les lames cornéennes.

l'épaisseur des lames cornéennes et s'y montrent comme des ailettes ou des piquants, suivant qu'elles sont vues de face ou de profil.

Les noyaux des cellules fixes, qui en général ne sont pas atteints par l'imprégnation, sont réservés en blanc au milieu du protoplasma cellulaire coloré en violet plus ou moins foncé.

Dans les préparations faites au moyen du nitrate d'argent, ils sont invisibles; mais, lorsque l'imprégnation n'est pas trop forte, on peut les faire apparaître en plongeant pendant plusieurs heures la cornée imprégnée dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100, et en la soumettant ensuite, après l'avoir lavée, à l'action d'une solution d'acide oxalique à 10 pour 100.

Si l'on se propose d'observer seulement les noyaux des cellules fixes, il suffit, après avoir détaché la cornée, de la maintenir pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans la solution de purpurine (voy. p. 95). Ces noyaux sont extrêmement minces; de face, ils paraissent arrondis, ovalaires ou plus ou moins échancrés sur leurs bords; ils contiennent un ou deux nucléoles bien accusés.

Lorsque l'on aura étudié les cellules fixes à l'aide des méthodes précédemment indiquées, on pourra entreprendre avec fruit leur observation dans la cornée vivante. Pour cela, il faudra employer la chambre humide recommandée par Engelmann : cette chambre humide ne diffère de celle qui a été représentée et décrite page 58 que par l'absence du disque central.

La cornée d'une grenouille que l'on vient de sacrifier, étant détachée au moyen d'un couteau à cataracte, est portée sur une lamelle de verre dans une goutte d'humeur aqueuse que l'on a recueillie au préalable dans un tube à vaccin; s'il y reste des fragments de l'iris ou du pigment, il faut l'en débarrasser au moyen d'un pinceau de poil de martre que l'on doit prendre très petit, afin qu'il n'entraine que le moins possible de l'humeur aqueuse. Puis, après l'avoir incisée sur ses bords, on l'étale sur la lamelle, en l'y faisant reposer par sa face postérieure. Cela fait, on saisit la lamelle avec une pince, on la retourne et on la place sur le porte-objet chambre humide, de manière que la cornée soit située au niveau de l'espace circulaire ménagé à son milieu, et l'on achève la préparation en bordant à la paraffine.

La cornée, que l'adhésion moléculaire maintient suspendue à la face inférieure de la lamelle de verre, se trouve ainsi dans une cavité limitée remplie d'air qui bientôt se sature de vapeur d'eau. Dans ces conditions, elle reste vivante, et on peut l'examiner à l'aide des plus forts grossissements, si toutefois on a choisi une lamelle assez mince.

Le plus souvent, lorsque la préparation vient d'être faite, l'image que l'on aperçoit est extrêmement vague, mais peu à peu elle devient plus distincte. On voit apparaître d'abord les corps des cellules fixes, puis leurs prolongements principaux, et enfin, au bout d'une heure et quelquefois plus, elles sont dessinées nettement. Leurs noyaux ne se montrent pas.

Cette amélioration de l'image tient à ce que la substance connective de la cornée ayant absorbé une partie de l'humeur aqueuse est devenue moins réfringente, tandis que les cellules résistant à l'imbibition ont gardé leur

indice de réfraction primitif et, se trouvant ainsi désormais dans un milieu moins réfringent que leur propre substance, deviennent par là même parfaitement visibles. En effet, pendant que ces phénomènes se produisent, la cornée augmente sensiblement d'épaisseur. On le reconnaît à ce qu'il devient souvent impossible d'arriver en abaissant l'objectif à voir l'épithélium antérieur, tandis que cela était aisé au début de l'observation.

Quelques expériences faciles à reproduire viennent donner à cette interprétation toute sa valeur. Il suffit, par exemple, de sortir la cornée de la chambre humide et de l'exposer à l'air pendant quelques minutes pour que les cellules fixes disparaissent de nouveau. On peut obtenir un résultat analogue et voir le contour des cellules s'effacer peu à peu, si, après avoir déposé dans le fond de la chambre humide une substance hygrométrique, de la glycérine par exemple, on remet la lamelle en place pour continuer l'observation[1].

Pendant que les cellules fixes sont exposées à ces alternatives, elles restent vivantes. C'est seulement lorsqu'elles sont mortes, soit à la suite d'un séjour prolongé dans la chambre humide, soit sous l'influence d'autres causes accidentelles (traumatisme, décharges électriques, actions chimiques), que les noyaux apparaissent dans leur intérieur.

Il existe toujours, même à l'état physiologique, dans la cornée des divers animaux un nombre plus ou moins considérable de cellules lymphatiques qui cheminent, soit entre les lames cornéennes, soit dans leur intérieur. Ces cellules, *cellules migratrices*, se reconnaissent dans la cornée vivante examinée dans la chambre humide, alors même que les cellules fixes y sont encore indistinctes, ce qui tient, ou bien à ce qu'elles sont plus réfringentes, ou bien à ce qu'elles présentent une plus grande épaisseur. On les voit se déplacer au moyen de leurs prolongements amiboïdes, comme le font les cellules de la lymphe dans leur propre plasma (voy. p. 152). Dans leur migration, elles ne paraissent pas suivre des voies préformées ; ainsi qu'Engelmann l'a soutenu contre Recklinghausen ; elles passent indifféremment entre les lames cornéennes ou dans ces lames elles-mêmes, en écartant les fibres qui les constituent.

La méthode de l'or convient tout spécialement pour l'étude des cellules migratrices. A l'aide de cette méthode, on obtient des préparations dans lesquelles les cellules fixes sont à peine colorées, tandis que les migratrices présentent une coloration violette très foncée.

Elles se montrent sous deux formes, suivant qu'elles ont été saisies par le réactif au moment où elles cheminaient entre les lames cornéennes, *cellules interlamellaires*, ou dans l'épaisseur de ces lames, *cellules intralamellaires*.

Les cellules interlamellaires sont aplaties et montrent sur leurs deux faces des crêtes d'empreinte perpendiculaires entre elles. Les cellules intralamellaires sont fusiformes, allongées suivant la direction des fibres qui les

1. Certains auteurs disent avoir observé, sous l'influence d'excitations électriques ou mécaniques, des changements de forme des cellules fixes, et ont admis que ces éléments sont contractiles. Pour plus amples détails, voyez *Leçons sur la cornée*, p. 205 et suivantes.

entourent et entre lesquelles elles envoient de nombreuses expansions latérales qui simulent une série d'épieux réunis en faisceau.

Dans des coupes faites suivant un des méridiens de la cornée du bœuf, du cheval ou de tout autre grand mammifère, après action de vapeurs d'acide osmique et durcissement par l'alcool, on aperçoit toujours, dans les lames cornéennes sectionnées perpendiculairement à la direction de leurs fibres, quelques cellules migratrices intralamellaires sous la forme de corpuscules arrondis, desquels partent en rayonnant des ailettes qui s'insinuent entre les faisceaux voisins [1].

L'épithélium antérieur de la cornée doit être étudié d'abord sur des coupes perpendiculaires à la surface faites après durcissement commencé par le liquide de Müller ou le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 et complété par l'action successive de la gomme et de l'alcool.

Ces coupes doivent être très minces. Colorées par le picrocarminate, l'hématoxyline, etc., elles permettent de reconnaître les trois couches qui composent cet épithélium, formées, la superficielle, de cellules lamellaires, la moyenne, de cellules polyédriques, la profonde, de cellules cylindriques. Ces dernières sont les agents actifs de la reproduction du revêtement épithélial, tandis que les plus superficielles, arrivées à la fin de leur évolution, se détachent et tombent dans le liquide des larmes.

Les cellules de l'épithélium antérieur peuvent être facilement isolées chez les divers animaux, lorsque la cornée a séjourné vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers ou dans tout autre réactif dissociateur. Les superficielles sont semblables à celles qui se détachent si facilement de l'épithélium buccal (voy. fig. 68) ; les moyennes montrent sur leur face profonde des dépressions séparées par des crêtes plus ou moins hautes, comme les cellules de l'épithélium vésical (voy. fig. 77) ; les profondes présentent, sur celle de leurs faces qui était appliquée sur la membrane basale antérieure, une bordure qui, chez les batraciens anoures et plus nettement encore chez les urodèles, la salamandre en particulier, est nettement striée perpendiculairement à la surface. Ces cellules, ainsi que celles de la couche moyenne, présentent une dentelure marginale.

L'épithélium postérieur de la cornée double la membrane de Descemet. Il est formé d'une seule couche de grandes cellules polygonales d'une épaisseur notable, qui, après l'action du nitrate d'argent, se montrent séparées par des lignes intercellulaires nettes, comme il s'en produit dans les autres épithéliums à une seule couche. Le plus souvent, l'application de ce réactif détermine un retrait et une coloration brune plus ou moins forte du protoplasma de ces éléments cellulaires. Leurs noyaux, qui alors sont ménagés en

1. La migration des cellules lymphatiques, qui a été découverte par Recklinghausen dans la cornée de la grenouille (*Ueber Eiter- und Bindegewebskörperchen* in *Arch. de Virchow*, 1863, t. XXVIII, p. 157), a, comme l'a parfaitement établi cet auteur, une portée très générale. Elle peut se produire dans tous les organes dont la trame est formée de tissu conjonctif et s'effectue, non pas comme Recklinghausen le croyait, dans des voies préformées, les canalicules du suc, mais partout où les cellules lymphatiques peuvent écarter des éléments simplement juxtaposés ou faiblement soudés les uns aux autres.

clair, affectent une forme bosselée, assez simple chez les mammifères, très complexe chez les batraciens.

Les nerfs de la cornée doivent être étudiés à l'aide de la méthode de l'or. Le procédé de Cohnheim (voy. p. 658) donne parfois de très bons résultats, mais on ne les obtient que par exception ; celui qui consiste à immerger la cornée dans le jus de citron avant de la soumettre à l'action du chlorure d'or réussit presque toujours, surtout si l'on tient compte des indications qui ont été fournies page 620. Les préparations montées dans la glycérine se conserveront pendant fort longtemps si la cornée, après que la réduction de l'or y est suffisante, est placée pendant plusieurs jours dans l'alcool, ce dernier réactif ayant la propriété d'arrêter toute réduction ultérieure.

Lorsque, après l'avoir convenablement dorée et l'avoir débarrassée de son épithélium antérieur, on examine à plat la cornée du lapin, du rat, de la grenouille, du lézard, du triton, etc., on voit les nerfs pénétrer au niveau de sa circonférence, s'avancer vers son centre, en se divisant et s'anastomosant, et s'infléchir pour gagner sa surface antérieure.

Chez les mammifères, le lapin en particulier, ils forment, dans les couches superficielles de la cornée, un peu au-dessous de la membrane basale antérieure, un premier plexus, *plexus fondamental*. Ce plexus, dont les travées sont des faisceaux de fibrilles nerveuses et dont les nœuds sont constitués par un enchevêtrement presque inextricable de ces fibrilles, paraît s'étendre comme un filet sur toute la surface de la cornée. Dans ses nœuds, dans ses principales branches et dans les nerfs qui y arrivent se trouvent des noyaux arrondis ou ovalaires, ménagés en clair après l'action du chlorure d'or et que l'on peut colorer sur les préparations ordinaires au moyen du carmin, de la purpurine ou de l'hématoxyline. Ces noyaux, qui, d'après His[1] et Lavdowski[2], appartiendraient à des cellules ganglionnaires, sont les analogues de ceux que l'on observe dans les autres fibres sans

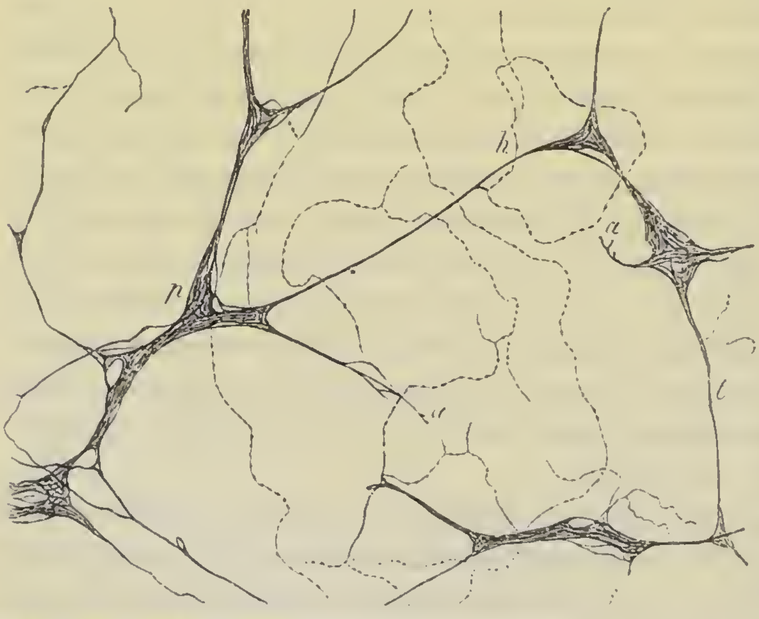


Fig. 509. — Plexus fondamental et plexus sous-basal de la cornée du lapin, imprégnés par l'or. — *p*, nœuds du plexus fondamental : *t*, ses travées : *a*, points où les fibres nerveuses ont été coupées par le raclage de l'épithélium au niveau de la membrane basale antérieure : *h*, travées du plexus sous-basal.

1. *His*, Beitraege zur normalen und pathologischen Histologie der Cornea. Basel. 1856.
2. *Lavdowski*, Das Saugadersystem und die Nerven der Cornea (*Arch. f. mikr. Anat.*, 1872, t. VIII).

myéline d'un calibre notable, par exemple les fibres de Remak (voy. p. 574), et ils ont la même signification physiologique et morphologique.

Le plexus fondamental n'a pas la valeur d'un réseau terminal, comme l'ont cru les histologistes avant l'introduction de la méthode de l'or. On en voit partir des rameaux nerveux composés d'un certain nombre de fibrilles qui, dans les cornées dorées vues de face après le raclage de l'épithélium antérieur, semblent se terminer brusquement; leurs ramifications ultérieures ont été enlevées par le scalpel.

Toutes les branches qui se dégagent du plexus nerveux fondamental ne sont pas ainsi sectionnées; quelques-unes d'entre elles, extrêmement grêles, cheminent dans couches superficielles du stroma cornéen et, s'anastomosant pour former des mailles larges et arrondies, constituent un nouveau plexus, qui a été décrit par Hoyer[1] sous le nom de *plexus sous-basal*, parce qu'il est situé immédiatement au-dessous de la membrane de Bowman.

Chez les batraciens, la grenouille, le triton, etc., il n'y a pas à proprement parler de plexus fondamental. Les nerfs, après s'être anastomosés successivement et d'une manière tout à fait irrégulière dans les différents plans de la cornée, donnent des branches qui se dirigent brusquement vers l'épithélium antérieur et que l'on désigne sous le nom de branches perforantes. En outre, il se dégage des troncs nerveux des fibres qui forment dans les couches profondes de la cornée un plexus qui a été découvert par Kölliker[2].

Ce plexus, dont les mailles sont rectangulaires, est formé de travées fines dont quelques-unes sont composées d'une seule fibrille nerveuse et qui presque toutes, au moins en quelques points, ont un trajet brisé en escalier. Changeant brusquement de direction, elles font un angle droit ou voisin du droit en passant dans un plan plus superficiel ou plus profond; puis, après avoir décrit encore un ou deux zigzags analogues, elles s'anastomosent avec une autre fibre en formant avec elle un angle à peu près droit.

Chez le bœuf et le cheval, dont les cellules fixes de la cornée sont aussi du type corpusculaire, il existe un plexus semblable, mais qui n'est pas limité aux parties profondes. Pour l'observer, il faut, après avoir doré convenablement la cornée et l'avoir traitée par l'alcool, y pratiquer des coupes parallèles à la surface. Comme, chez ces animaux, les lames cornéennes sont relativement épaisses, le changement de plan des fibrilles nerveuses au niveau de leurs coudes est encore plus accusé que chez la grenouille, et en observant ces fibrilles attentivement on arrive bien vite à se convaincre, d'une part qu'elles cheminent dans l'épaisseur des lames cornéennes entre les fibres connectives qui les composent, ce qui explique leur trajet rectiligne, et d'autre part que, dans les points où elles font un angle, elles sortent d'une lame pour pénétrer dans la lame voisine et s'engager entre les fibres de cette dernière, ce qui explique leur brusque changement de direction.

1. *Hoyer*, Ueber die Hornhaut (*Arch. f. micr. Anat.*, 1873, t. IX, p. 220).

2. *Kölliker*, Ueber die Nervenendigungen in der Hornhaut (*Würzb., naturw. Zeitschrift*, 1866).

Quelques auteurs, Kühne[1] d'abord, puis Lavdowski[2] et plus récemment Izquierdo[3] et Eloui[4], ont pensé que les fibrilles du plexus en zigzag se terminent finalement dans les cellules fixes de la cornée en se confondant avec un de leurs prolongements. Il est probable que cette manière de voir repose sur des observations insuffisantes. En effet, lorsque les fibrilles nerveuses passent d'une lame dans une autre, il arrive souvent que, traversant l'espace interlamellaire au niveau d'une cellule, elles suivent un de ses prolongements auquel elles s'accolent; mais en réalité elles poursuivent leur trajet au delà. Pour faire une bonne observation, il faut que l'action de l'or sur les nerfs ait été complète et plus marquée que sur les cellules; les fibres nerveuses étant alors colorées en violet foncé, tandis que les prolongements

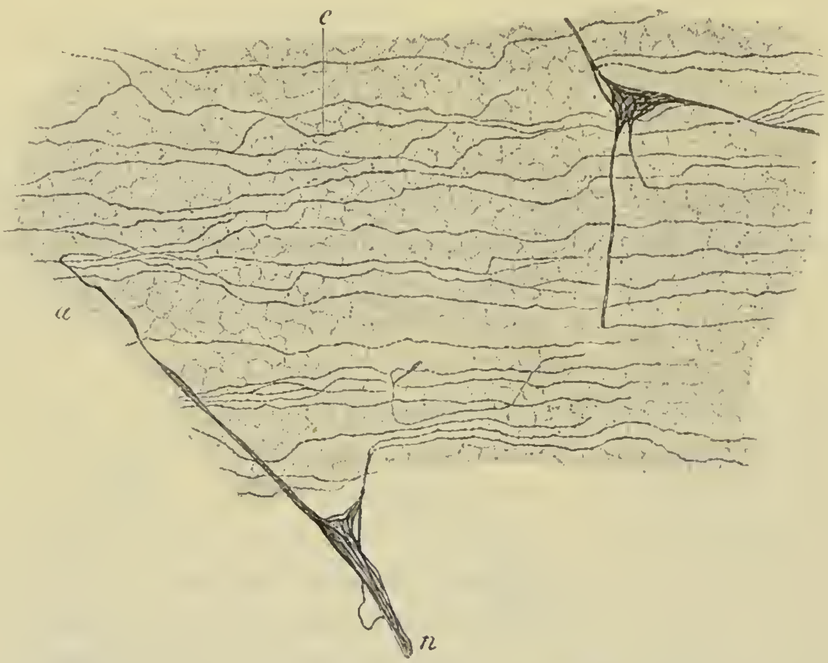


Fig. 510. — Plexus sous-épithélial de la cornée du lapin traitée par le chlorure d'or. — *n*. travée du plexus fondamental; *a*. point où une fibre perforante, après avoir traversé la membrane basale antérieure, donne naissance à des fibres du plexus sous-épithélial; *e*, fibres du plexus sous-épithélial.

cellulaires ont une teinte beaucoup plus faible, on ne risquera plus de les confondre.

Les fibres nerveuses de la cornée ne sont pas contenues dans des canaux: elles cheminent aussi bien dans l'intérieur des lames cornéennes que dans les espaces interlamellaires, et cela est vrai non seulement pour les fibrilles du plexus en zigzag, mais encore pour des rameaux nerveux beaucoup plus gros. Pour s'en convaincre, il suffit d'examiner des coupes de la cornée du

1. *Kühne*, Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität. Leipzig, 1864.

2. *Lavdowski*, Das Saugadersystem und die Nerven der Cornea (*Archiv. f. micr. Anat.*, t. VIII, p. 538).

3. *Izquierdo*, Beitraege zur Kenntniss der Endigung der sensiblen Nerven. Strassb., 1879, pl. I.

4. *Eloui*, Recherches histologiques sur le tissu connectif de la cornée des animaux vertébrés. Paris, 1881, p. 124.

lapin faites perpendiculairement à sa surface suivant une des cordes de sa circonférence et très près de son bord. On y verra des fibres nerveuses d'un diamètre notable coupées en travers et comprises, soit entre les lames cornéennes, soit dans leur intérieur. Cependant le plexus sous-basal de Hoyer, qui existe chez les animaux dont les cellules fixes de la cornée sont du type membraniforme, lapin, rat, cochon d'Inde, doit, si l'on en juge par la forme arrondie de ses mailles, occuper surtout les espaces interlamellaires.

Revenons maintenant aux fibres qui se dégagent du plexus fondamental et qui se dirigent vers l'épithélium antérieur. Déjà dans des coupes parallèles à la surface de la cornée et comprenant à la fois son revêtement épithélial et les couches superficielles de son stroma, on les voit, après avoir traversé la membrane basale antérieure, changer brusquement de direction, former un angle droit, se diviser et donner un pinceau de fibrilles qui chemine à la surface de cette membrane. Ces fibrilles, qui toutes se dirigent vers le centre de la cornée, s'anastomosent entre elles et forment sous l'épithélium antérieur un plexus qui a été découvert par Cohnheim et qui porte le nom de *plexus sous-épithélial*.

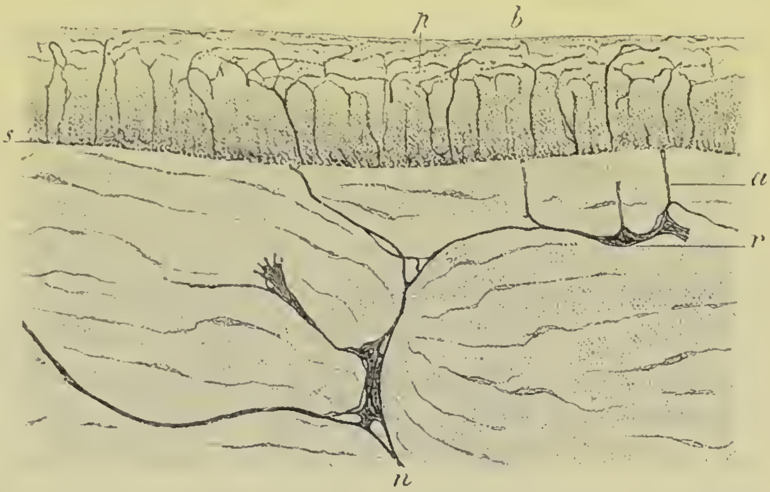


Fig. 511. — Coupe transversale de la cornée du lapin après traitement par le chlorure d'or. — *n*, nerf afférent; *r*, nœud du plexus fondamental; *a*, fibre perforante; *s*, plexus sous-épithélial; *p*, plexus intra-épithélial; *b*, boutons terminaux.

Du plexus sous-épithélial partent des fibres nerveuses qui s'engagent entre les cellules épithéliales de la première rangée et dont le trajet doit être étudié dans des coupes perpendiculaires à la surface de la cornée. Dans ces coupes, on les voit s'infléchir après avoir dépassé les cellules de la première rangée, cheminer entre celles de la seconde, puis se diviser et s'anastomoser avec d'autres fibres semblables pour constituer un *plexus intra-épithélial*. Enfin, gagnant les couches superficielles, elles s'insinuent entre les cellules lamellaires qui les composent, se contournant quelquefois en tire-bouchon à la manière des conduits excréteurs des glandes sudoripares dans l'épiderme, et se terminent au voisinage de la surface par des boutons.

Cohnheim[1], qui a découvert en même temps le plexus sous-épithélial, le plexus intra-épithélial et les boutons terminaux des nerfs de la cornée, pensait que ces boutons dépassaient l'épithélium et flottaient dans le liquide des larmes. Mais, ainsi que l'a fait remarquer Kölliker[2], les boutons termi-

1. *Cohnheim*, Ueber die Endigung der sensiblen Nerven in der Hornhaut der Saügethiere (*Centralblatt.*, 1866, p. 401, et *Archives de Virchow*, 1867, t. XXXVIII, p. 343).

2. *Kölliker*. Ueber die Nervenendigungen in der Hornhaut (*Würzb. naturw. Zeits.*, 1866).

naux sont presque toujours recouverts par une ou plusieurs cellules lamellaires de l'épithélium et, lorsqu'ils paraissent complètement libres, ce qui est fort rare, on peut toujours supposer que les cellules qui les recouvraient ont été détachées.

PEAU

Étude générale de la peau. — Avant d'étudier les terminaisons nerveuses qui sont comprises dans la peau, il est nécessaire d'examiner la structure des différentes parties qu'elle contient : derme, papilles, épiderme, ongles, poils, glandes sébacées et glandes sudoripares.

La charpente du derme est essentiellement constituée par des faisceaux connectifs et des fibres élastiques qui proviennent du tissu cellulaire sous-cutané et qui forment un tissu fentré de plus en plus serré à mesure que l'on se rapproche de la surface. Moulées exactement dans les espaces qu'ils laissent entre eux, les cellules connectives sont d'autant moins étalées et ont une forme d'autant plus compliquée qu'on les examine dans des couches plus superficielles.

Dans certaines régions, la paume des mains et la plante des pieds entre autres, les parties profondes du derme contiennent, en outre, des cellules adipeuses qui, groupées en lobules, constituent le pannicule adipeux.

Pour reconnaître ces faits, il faut employer la méthode suivante : un fragment de peau étant conservé depuis deux ou trois semaines dans le liquide de Müller ou dans le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, on le soumet à l'action successive de la gomme et de l'alcool pour en compléter le durcissement. On y fait des coupes perpendiculaires à la surface qui, après avoir été débarrassées de la gomme par un séjour convenable dans l'eau, sont colorées par l'hématoxyline et montées dans le baume du Canada ou dans la résine dammare. Il convient que la coloration soit faible. Les faisceaux connectifs ont alors une teinte gris de lin, les cellules adipeuses sont incolores; leurs noyaux et ceux des cellules connectives sont d'un bleu plus ou moins intense. Entre les faisceaux connectifs, qui ont éprouvé un léger retrait sous l'influence des réactifs employés, se montrent des fentes correspondant aux espaces ménagés dans le tissu pour la circulation du plasma.

Derme. — Les faisceaux connectifs du derme sont également bien marqués dans des coupes faites sur de très petits fragments de peau traités par une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et dont le durcissement a été complété par l'action successive de la gomme et de l'alcool. Les cellules adipeuses y sont colorées en noir-brun, les cellules connectives et leurs noyaux sont indistincts. Pour rendre ces derniers éléments évidents, il faut les colorer, soit par le picrocarminate, soit par la purpurine; mais la coloration ne s'y produit que si l'action de l'acide osmique n'a pas été trop prolongée.

Pour apprécier la forme des cellules connectives et leurs rapports avec les faisceaux, les préparations précédemment indiquées ne suffisent pas. Seules, les coupes faites sur un fragment de peau convenablement doré

donnent de ces cellules, comme des cellules fixes de la cornée, des images démonstratives. Les fragments doivent être pris sur la peau tout à fait fraîche, ne pas avoir plus de 5 millimètres de côté et être bien débarrassés du pannicule adipeux. On les laissera dix minutes dans le jus de citron et une ou deux heures dans du chlorure d'or à 1 pour 100. La réduction sera obtenue dans de l'eau légèrement acétifiée et à la lumière du jour; le durcissement sera complété par un séjour convenable dans l'alcool ordinaire.

Papilles. — Les mêmes préparations conviennent pour l'étude des papilles. Elles permettent de reconnaître que les faisceaux connectifs y sont encore plus minces et plus intriqués que dans le derme proprement dit. La plupart d'entre eux se dirigent vers la surface et, se divisant encore, paraissent s'y



Fig. 512. — Coupe de la peau de la pulpe d'un doigt, faite après macération dans le sérum iodé. Le revêtement épidermique a été détaché. — *p*, papille; *v*, vaisseau sanguin; *c*, crêtes papillaires.

terminer. Mais, pour faire une étude plus complète des papilles, il faut employer d'autres méthodes. Si, après fait macérer un fragment de peau dans le sérum iodé en suivant les indications qui ont été données pages 195 et 196, on y fait des coupes verticales, on peut facilement les débarrasser du revêtement épidermique. Les papilles mises à nu sont comme plissées; leur surface présente des crêtes plus ou moins obliques qui, vues de profil, simulent des dents. A l'aide d'un bon objectif à immersion, on peut reconnaître qu'elles sont recouvertes à leur surface d'une couche anhiste mince, la *membrane basale*.

Vaisseaux. — Les papilles, à l'exception de celles qui possèdent des corpuscules du tact, contiennent des vaisseaux que l'on peut déjà reconnaître dans les préparations précédemment indiquées, mais dont on appréciera mieux la

disposition dans des coupes faites après injection du réseau vasculaire par les procédés décrits pages 451 et 110. Les doigts de l'homme conviennent tout spécialement pour la préparation des vaisseaux des papilles. L'injection doit être faite avec du bleu de Prusse ou du carmin additionné de gélatine, et il faut en introduire une quantité assez grande pour distendre complètement les vaisseaux sans y produire de rupture.

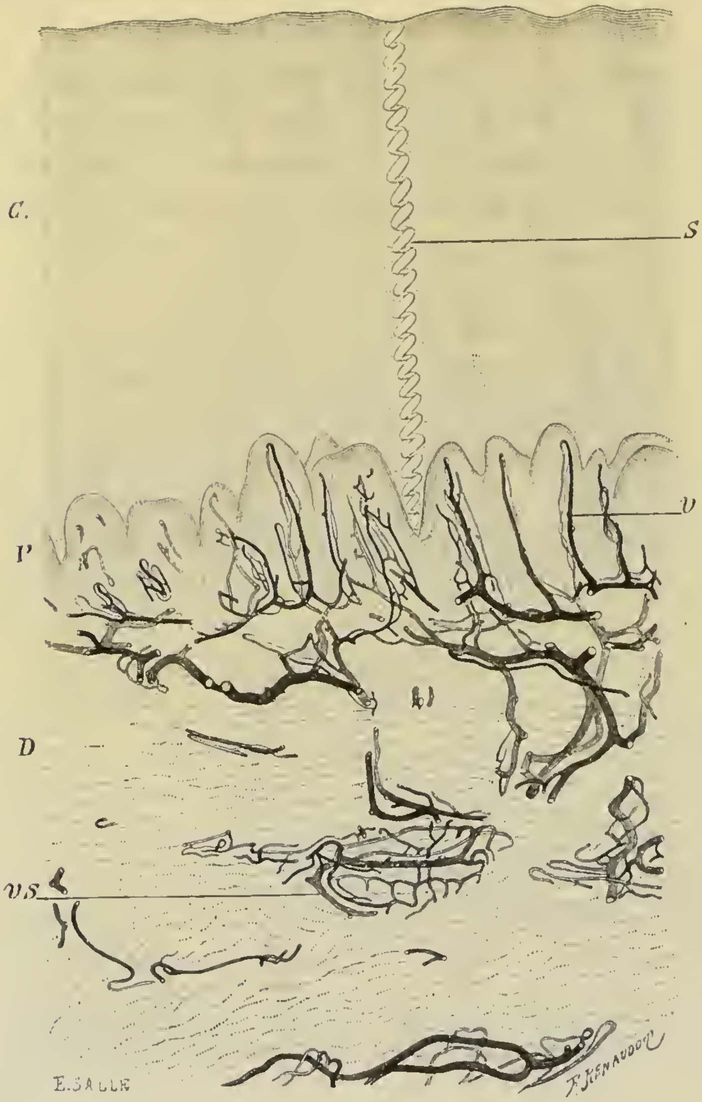


Fig. 515. — Coupe transversale de la peau de la région palmaire du doigt indicateur de l'homme. — Injection par une des artères collatérales du doigt, l'autre étant liée, avec une masse de carmin et de gélatine. Durcissement dans l'alcool. — Préparation montée dans le baume du Canada. — C, épiderme; P, papilles; D, derme; *s*, canal de glande sudoripare; *v*, vaisseaux des papilles; *vs*, réseau capillaire d'un glomérule de glande sudoripare. — 45 diamètres.

Les coupes verticales de la peau de la face palmaire permettent alors de reconnaître, dans chaque papille, une veine centrale qui, avant d'en atteindre le sommet, se termine par un cul-de-sac arrondi ou légèrement conique. Cette veine est quelquefois accompagnée d'un seul capillaire qui la longe ou qui décrit autour d'elle des tours de spire plus ou moins nombreux, et qui vient se jeter dans son cul-de-sac terminal après avoir formé une anse dont la convexité atteint le sommet de la papille.

D'autres fois, à côté de la veine centrale, se montrent plusieurs capillaires qui forment autour d'elle un réseau complexe et viennent s'y ouvrir sur différents points de son trajet.

Ces dispositions rappellent celles que l'on observe dans l'appareil vasculaire du grand épiploon du lapin (voy. p. 455).

Lymphatiques — Les papilles de la peau contiennent aussi des vaisseaux lymphatiques qui s'y terminent environ au tiers de leur hauteur, tantôt par un cul-de-sac, tantôt par une extrémité effilée ou par un anneau semblable à un anneau de clef. Ils sont admirablement placés pour recueillir le plasma exsudé des vaisseaux sanguins, après qu'il a concouru à la nutrition de la papille et de son revêtement épidermique.

Pour réussir l'injection double des vaisseaux sanguins et des lymphatiques, il est nécessaire de remplir d'abord ces derniers avec une solution de bleu de Prusse sans gélatine en procédant par piqûre. Il faut pour cela se servir d'une seringue hypodermique munie d'une canule en acier ou en platine iridié à pointe fine et à biseau très court. On la fait pénétrer obliquement et avec lenteur à travers l'épiderme, tout en pressant légèrement sur le piston de la seringue, jusqu'à ce qu'on voie se produire une tache bleue qui s'étend rapidement. Si, au lieu d'une tache à diffusion rapide, il se forme une élevure, c'est qu'on a pénétré trop profondément et que l'on a rempli les mailles du derme. Dans ce dernier cas, quelques lymphatiques seulement sont injectés, et encore dans les coupes on aurait de la peine à les reconnaître au milieu de la masse bleue qui les entoure.

Il arrive souvent aussi que la canule perfore les vaisseaux sanguins, et que le liquide coloré y pénètre. Cet accident se produirait d'une manière constante si l'on avait commencé par l'injection des vaisseaux sanguins, car, lorsqu'ils sont remplis, ils sont si rapprochés les uns des autres, qu'on les percerait presque inévitablement.

Lorsque l'injection des lymphatiques a réussi, on pratique celle des vaisseaux sanguins avec une masse carminée à la gélatine (voy. p. 105).

Épiderme. — On devra commencer l'étude de l'épiderme par l'examen de préparations faites comme il suit : un fragment de peau de la face palmaire des doigts, tout à fait frais et débarrassé du pannicule adipeux, est placé dans l'alcool ordinaire pendant vingt-quatre heures ; on l'inclut alors dans le mélange de cire et d'huile (voy. p. 566) et l'on y fait à main levée des coupes perpendiculaires à la surface, qui doivent être fort minces. Reçues d'abord dans l'alcool qui sert à mouiller le rasoir, elles sont ensuite portées dans l'eau, puis placées sur une lame de verre dans une goutte de picrocarminate très étendu. Une ou deux minutes après, on les recouvre d'une lamelle sur le bord de laquelle on place une goutte de glycérine qui s'insinue peu à peu et rend la préparation persistante.

Entre le corps muqueux proprement dit, à peine coloré, et la couche cornée teintée de jaune strié de rouge, se montre une couche colorée en rouge vif, décrite par Langerhans [1], et que Unna [2] a désignée dans ces derniers temps sous le nom de *stratum granulosum*. Cette couche est composée de deux ou trois rangées de cellules qui, dans la coupe, paraissent losangiques ou trapézoïdes et qui sont légèrement aplaties suivant la surface de la peau. Elles contiennent, à côté d'un noyau plus ou moins atrophié, des gouttes d'une substance liquide qui a la propriété de se colorer rapidement et vivement par le carmin, quand bien même il est employé à dose très faible. Cette substance, à laquelle j'ai donné le nom d'*éléidine* [3], se montre aussi à la

1. *Langerhans*, Ueber Tastkœrperchen und Rete Malpighi (*Arch. f. micr. Anat.*, t. IX, 1873).

2. *Unna*, Beiträge zur Histologie und Entwicklungsgeschichte der menschlichen Oberhaut und ihrer Anhangsgebilde (*Arch. f. micr. Anat.*, t. XII, 1876, p. 665).

3. Sur une substance nouvelle de l'épiderme et sur le processus de kératinisation du revêtement épidermique (*Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 30 juin 1879).

surface de la coupe, sous la forme de gouttes ou de flaques entièrement libres, de dimensions variables et à bords plus ou moins sinueux, entre les lits de cellules qui composent la couche épidermique située immédiatement au-dessus du *stratum granulosum*. Cette couche, le *stratum lucidum* d'Œhl et de Schrön[1], se voit plus ou moins distinctement suivant les préparations; elle peut être considérée simplement comme la partie la plus profonde de la couche cornée. Cependant, dans les coupes faites après l'action de l'acide osmique, elle apparaît, ainsi que Unna l'a bien indiqué, comme une bande claire entre le *stratum granulosum* et la partie profonde de la couche cornée proprement dite qui est colorée en noir.

La coloration de la couche cornée par l'acide osmique n'est pas toujours uniforme. Si cette couche est épaisse, comme à la paume des mains et à la



Fig. 514. — Coupe verticale d'un très petit fragment de la peau de la face palmaire des doigts de l'homme, faite après un séjour de vingt-quatre heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. La couche cornée est colorée en noir à sa surface et dans sa région profonde, sauf sur les bords du morceau *n*, où elle est colorée dans toute son épaisseur. La bande noire profonde *c* est plus mince que la bande superficielle *a* (cela tient à ce que l'acide osmique n'est arrivé dans cette région de la couche cornée qu'après avoir perdu du temps à traverser le derme et le corps muqueux de Malpighi); *b*, portion de la couche cornée dans laquelle l'acide osmique n'a pas pénétré; *l*, stratum lucidum; *g*, stratum granulosum; *m*, corps muqueux de Malpighi; *d*, derme; *s*, canal d'une glande sudoripare.

plante des pieds, il reste en son milieu une région qui, n'ayant pas été atteinte par le réactif ou ne l'ayant été que très faiblement, forme une zone incolore, (voy. p. 210).

Quelques expériences, que nous avons faites récemment, permettent d'apprécier la cause pour laquelle la couche cornée se colore en noir, tandis que le *stratum lucidum* demeure incolore.

Lorsque l'on plonge dans une solution d'acide osmique une coupe de la peau faite après durcissement par l'alcool ordinaire, la couche cornée prend

1. Voy. *Schrön*, Contribuzione alla anatomia, fisiologia e patologia della cute umana. Torino e Firenze, 1865.

dans toute son étendue une coloration noire, atténuée sur ses bords qui ont été plus directement atteints par l'alcool. Si, avant de faire agir l'acide osmique, la coupe a été traitée par l'alcool absolu, la couche cornée ne se colore plus en noir dans aucune de ses parties. Dès lors, il est logique d'admettre que l'alcool dissout une substance contenue dans la couche cornée et qui précipite l'osmium. Cette substance est vraisemblablement de la graisse. Or, le *stratum lucidum*, en rapport direct avec des couches du revêtement épidermique encore molles, doit contenir une certaine proportion d'eau et par conséquent ne pas se laisser imbiber par les matières grasses qui infiltrent les cellules desséchées de la couche cornée. Il est donc naturel qu'il ne réduise pas l'acide osmique et qu'il soit incolore dans les préparations faites seulement au moyen de cet acide.

A ce qui a été dit précédemment (p. 195 et 210) sur la structure du corps muqueux, nous devons ajouter les résultats de recherches plus récentes.

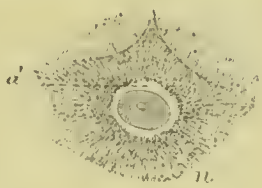


Fig. 515. — Cellule du corps muqueux de Malpighi, isolée après macération dans le sérum iodé. — *d*, espace compris entre la masse cellulaire et le noyau; *n*, filaments d'union brisés par la dissociation.

Contrairement à ce qui avait été avancé par Bizzozero, Lott[1] a soutenu que les piquants des cellules dentelées ne sont pas soudés bout à bout, mais s'accolent latéralement par leurs extrémités.

Nous avons émis nous-même sur le mode d'union des cellules du corps muqueux une nouvelle hypothèse. Considérant que ces cellules s'isolent difficilement, même après une longue macération dans le sérum iodé (voy. p. 195) et que les piquants qu'elles montrent alors sont irréguliers et comme brisés, nous avons pensé[2] que ces piquants ne sont que les restes de filaments qui, à l'état normal, réunissent les cellules les unes aux autres. Cette hypothèse est confirmée par l'examen de préparations faites dans les conditions suivantes :

Des fragments de la peau des doigts ou des orteils, recueillis tout à fait frais sur des membres amputés et pris dans des régions atteintes d'inflammation légère, sont durcis par l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool. On y fait des coupes verticales qui doivent être franches et extrêmement minces. Lorsqu'elles sont débarrassées de la gomme par un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau, on les monte en préparations persistantes dans l'eau phéniquée sans les avoir soumises à l'action d'aucun réactif colorant. Les filaments d'union, qui correspondent aux prétendues dents des cellules du corps muqueux, forment sur leur profil une élégante striation scalariforme (voy. fig. 516) et montrent souvent en leur milieu un petit nodule.

Les coupes de la peau, faites après l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool, colorées par l'hématoxyline nouvelle et l'éosine et conservées dans la glycérine, donnent aussi des prépa-

1. Lott, *loc. cit.*, voy. p. 200.

2. Nouvelles recherches sur le mode d'union des cellules du corps muqueux de Malpighi. (*Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 20 octobre 1879.)

rations fort démonstratives. Les noyaux y sont colorés en violet et les filaments d'union en rose. On y voit des filaments se poursuivre dans l'intérieur des cellules qu'ils unissent et leur donner la structure fibreuse dont nous avons parlé (voy. p. 210) et que nous avons décrite dans une communication à l'Académie des sciences[1].



Fig. 516. — Coupe du corps muqueux de Malpighi, faite parallèlement à la surface de la peau, après injection d'acide osmique dans les vaisseaux et durcissement par la gomme et l'alcool. — *c*, corps muqueux de Malpighi; *tc*, tissu conjonctif du derme.

Les dents de la face profonde des cellules épidermiques de la première rangée sont implantées dans la membrane basale et assurent ainsi l'union solide de l'épiderme et du derme. Ces cellules sont en rapport les unes avec les autres par des filaments et contiennent des noyaux qui ne sont pas tous à la même hauteur. Certaines d'entre elles montrent les phénomènes de la multiplication par division indirecte. Les nouvelles cellules ainsi formées s'élèvent au-dessus des autres, gagnent les rangées supérieures et concourent ainsi à l'évolution épidermique.



Fig. 517. — Coupe perpendiculaire à la surface de l'épiderme de la plante du pied de l'homme, faite après durcissement des tissus par l'action successive du bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, de la gomme et de l'alcool; conservée dans l'eau phéniquée.

Lorsque, par suite de cette évolution, elles ont atteint le *stratum granulosum*, il se forme dans leur protoplasma des gouttes d'éléidine, leurs noyaux s'atrophient, les filaments qui les unissent s'effacent, et, pressées contre la couche cornée, elles subissent un léger aplatissement. Arrivées dans le *stratum lucidum*, leurs noyaux et les gouttes d'éléidine qu'elles contenaient disparaissent complètement, et, réduites en lames minces, elles se soudent solidement les unes aux autres. Dans la couche cornée proprement dite, leur union se re-

1. Sur la structure des cellules du corps muqueux de Malpighi. (*Comptes rendus. Acad. des Sciences*, 1882.)

lâche, elles se dissocient peu à peu et, arrivées à la surface, elles tombent dans le monde extérieur, soit isolées, soit en groupes, sous la forme de petites écailles.

Ongles. — Les ongles sont des plaques de substance cornée, formées de cellules aplaties soudées intimement les unes aux autres et que l'on peut isoler au moyen de la potasse ou de l'acide sulfurique, en suivant les indications données pages 68 et 200. Ces cellules paraissent alors sphériques, claires, et, dans leur intérieur, se montrent les vestiges d'un noyau. Ce dernier caractère suffirait à distinguer les cellules unguéales de celles qui forment la couche cornée de l'épiderme.

On devra procéder ensuite à l'étude de coupes faites dans diverses directions et comprenant à la fois l'ongle et le derme sous-jacent, après les avoir détachés ensemble de la phalangette par une dissection soignée, en enlevant en même temps le repli sus-unguéal et une portion de la pulpe du doigt. Le durcissement des parties molles sera obtenu par un séjour convenable dans l'alcool, le liquide de Müller ou le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, et complété par l'action successive de la gomme et de l'alcool.

Les coupes verticales, passant par la ligne médiane de l'ongle, faites après

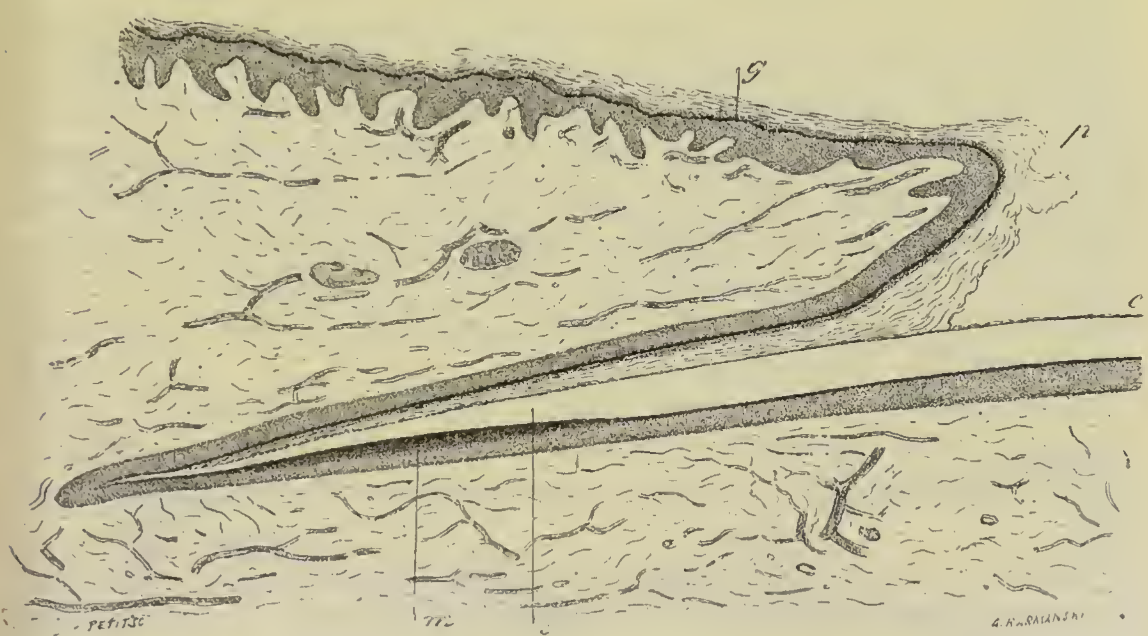


Fig. 518. — Ongle d'un enfant de 8 jours. Coupe perpendiculaire à la surface de l'ongle et passant par sa ligne médiane, faite après durcissement par l'alcool, colorée au picrocarminate faible. On n'a représenté dans le dessin que la portion de la coupe qui correspond à la racine de l'ongle e à la première portion de son corps. — *c*, corps de l'ongle; *r*, racine de l'ongle; *m*, matrice de l'ongle: *p*. pli sus-unguéal dans lequel le corps muqueux est séparé de la couche cornée par le *stratum granulosum g* et le *stratum lucidum* caractérisés par la présence de l'éléidine colorée en rouge vif par le carmin.

durcissement par l'alcool et colorées par le picrocarminate faible, sont les plus instructives. Elles montrent l'ongle coloré en jaune, ayant à peu près la même épaisseur dans toute l'étendue de son bord libre et de son corps et s'amincissant à partir de l'origine de sa racine aux dépens de sa

face inférieure, pour se terminer par une extrémité effilée dans le sillon de la peau que limite en haut le pli sus-unguéal. Le derme sous-unguéal est séparé de l'ongle, aussi bien au niveau de son corps que de sa racine, par une couche épithéliale molle colorée en rose et qui peut être considérée comme l'analogue du corps muqueux; elle se continue du reste avec lui sur la pulpe du doigt, et en arrière de la racine de l'ongle dans le repli sus-unguéal.

Dans toute la portion qui correspond au corps de l'ongle et qui porte le nom de *lit de l'ongle*, cette couche est mince et paraît avoir une épaisseur uniforme. En arrière, elle augmente d'épaisseur, pour remplir l'espace plus considérable qui, dans cette région désignée sous le nom de *matrice de l'ongle*, reste entre la racine de l'ongle et le derme sous-unguéal (fig. 518). Les cellules qui la constituent, cylindriques dans les couches profondes, deviennent polygonales dans les moyennes, puis s'aplatissent légèrement dans les superficielles. On voit entre elles une striation scalariforme, moins accusée que dans le corps muqueux de l'épiderme; dans aucune région elles ne contiennent d'éléidine. Déjà Heynold[1] avait constaté que dans l'épithélium sous-unguéal, pas plus au niveau du lit de l'ongle qu'au niveau de sa matrice, il n'y a rien qui ressemble à la couche granuleuse décrite pa Langerhans dans l'épiderme.

Cependant on observe un grand nombre de granulations accumulées dans les cellules molles qui forment l'étage supérieur de la matrice de l'ongle et dans celles qui constituent la rangée la plus superficielle de son lit. Seulement ces granulations paraissent solides et, au lieu de se colorer en rouge par le picrocarminate, comme les gouttes d'éléidine, elles y prennent une teinte brunâtre. C'est là le *stratum granulosum* de l'ongle, plus épais au niveau de sa matrice, parce que c'est le lieu de sa croissance active. La substance granuleuse qui se colore en brun par le picrocarminate mérite le nom de *substance onychogène*.

En revanche, l'éléidine abonde dans le *stratum granulosum* du repli sus-unguéal, immédiatement au-dessus de l'extrémité de la racine de l'ongle, et dans celui de la pulpe du doigt, immédiatement au-dessous de son bord libre.

Lorsqu'une coupe longitudinale et verticale de l'ongle, faite après l'action du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool, a été traitée par le picrocarminate, le corps muqueux de la matrice et du lit de l'ongle montre deux couches à peu près d'égale épaisseur dont la supérieure est colorée en rouge, tandis que l'inférieure est simplement rosée ou ne présente même pas de coloration. Ce fait prouve que l'évolution cellulaire qui aboutit à la production de la matière onychogène et à la formation de la substance cornée de l'ongle est bien plus graduelle et commence bien plus tôt que ne le feraient croire les préparations faites après durcissement par l'alcool.

Si l'on se contentait d'examiner les coupes longitudinales, on pourrait

1. *Heynold*, Beiträge zur Histologie und Genese des Nagels. (*Arch. de Virchow*, t. LXV. 1875, p. 270.)

croire que le lit de l'ongle est complètement plan. Mais, en réalité, il présente une série de crêtes dermiques longitudinales qui, dans les coupes perpendiculaires à l'axe de l'ongle, forment autant de festons d'un dessin régulier et élégant (fig. 519).

Chez l'homme adulte, la substance unguéale est complètement à nu sur la



Fig. 519. — Ongle d'un enfant de 8 jours. Coupe perpendiculaire à la surface et à la ligne médiane de l'ongle, au niveau de sa partie moyenne. Cette coupe a été faite après durcissement par l'alcool. Coloration par le picrocarminate faible. Conservation dans la glycérine. — *c*, corps de l'ongle; *l*, lit de l'ongle avec ses crêtes papillaires et son corps muqueux; *d*, derme sous-unguéal; *p*, pli et repli sus-unguéal dans lequel la couche cornée est séparée du corps muqueux par le *stratum granulosum* chargé d'éléidine, tandis que cette substance fait complètement défaut dans le revêtement épithélial du lit de l'ongle; *a*, commencement de la pulpe du doigt dans laquelle on distingue le derme, le corps muqueux, le *stratum granulosum* et la couche cornée.

face dorsale de l'ongle, aussi bien au niveau de son corps qu'au niveau de sa lunule qui correspond à la matrice. Il n'en est pas de même chez certains animaux. Chez les ruminants, les pachydermes et les solipèdes, l'ongle est recouvert d'une couche qui est l'analogue de la couche cornée de l'épiderme et qui, dans les coupes faites après l'action de l'alcool et traitées par le picrocarminate, se colore en jaune veiné de rouge, tandis que l'ongle proprement



Fig. 520. — Ongle d'un embryon humain de 4 mois et demi. Coupe perpendiculaire à la surface de l'ongle et passant par sa ligne médiane, faite après l'action du liquide de Müller. Coloration par le picrocarminate. — *c*, corps de l'ongle; *r*, racine de l'ongle; *m*, matrice de l'ongle; *p*, pli sus-unguéal; *b*, bourrelet recouvert d'épiderme dans lequel l'ongle se perd en avant. Il n'a pas de bord libre.

dit se colore en jaune franc. Cette épidermicule de l'ongle est fournie par le repli sus-unguéal, dont le revêtement épithélial, croissant comme l'ongle lui-même, le recouvre en contractant avec lui une adhérence solide et masque ainsi complètement le sillon dermique dans lequel il est serti.

Il est un stade du développement chez l'homme où l'ongle se présente sous la forme d'une plaque comprise dans l'épaisseur même de l'épiderme et se fondant insensiblement avec lui en avant. Les ongles des animaux que nous venons d'indiquer ont donc leur équivalent dans l'ongle embryonnaire de l'homme.

Il convient d'ajouter que la plaque unguéale intra-épidermique des embryons, aussi bien chez l'homme que chez le mouton, le cochon, etc., ne contient pas de matière glycogène, tandis que les cellules épidermiques qui la recouvrent en sont chargées. C'est là encore une différence essentielle entre la substance cornée de l'ongle et celle de l'épiderme.

Poils. — Les cellules cornées qui composent les poils, et que l'on peut isoler par les procédés indiqués à propos des ongles, sont de trois espèces : des lamelles écailleuses, minces, qui ne contiennent ni noyau, ni pigment; des cellules irrégulièrement fusiformes, chargées de pigment dans les poils colorés, et dans l'intérieur desquelles on aperçoit souvent des vestiges d'un noyau; enfin de petites cellules rondes, dont l'existence n'est pas constante.

Ces différentes cellules, que l'on ne voit pas distinctement dans un poil entier examiné dans l'eau ou dans la glycérine, peuvent être observées en place lorsqu'il commence à se désagréger sous l'influence des liquides dissociateurs, l'acide sulfurique chaud, par exemple. On reconnaît ainsi que les cellules lamellaires forment à la surface du poil une couche continue, l'*épidermicule*, dans laquelle elles se recouvrent de bas en haut, que les cellules fusiformes appartiennent à l'écorce du poil, et les petites cellules rondes à sa moelle.

La partie la plus intéressante du poil est sa racine, qui s'enfonce plus ou moins profondément dans le derme ; elle doit être étudiée dans des coupes de la peau convenablement orientées.

Après avoir recueilli des segments du cuir chevelu ou de toute autre région riche en poils, on les fera durcir par un des procédés classiques, par exemple au moyen de l'alcool seul, ou par l'action successive de l'alcool, de la gomme et de l'alcool.

Il convient d'examiner d'abord des coupes perpendiculaires à la surface de la peau et passant par l'axe des poils. Ces coupes seront faites à main levée. Pour les exécuter, l'opérateur devra porter toute son attention sur un des poils en particulier, qu'il dégagera d'abord d'un coup de rasoir et qu'il divisera ensuite, ainsi que les tissus qui l'entourent, en tranches aussi minces que possible.

Ces préparations, lorsqu'elles ont été colorées par le picrocarminate, sont fort instructives. La racine du poil et son follicule, qui descendent au-dessous du derme jusque dans le pannicule adipeux, s'y montrent plus ou moins obliques à la surface de la peau. L'angle obtus qu'ils forment avec cette surface est sous-tendu par le muscle redresseur, qui s'insère d'un côté à la partie moyenne du follicule renflé à ce niveau, de l'autre à la couche réticulaire du derme. Dans le triangle ainsi limité se voit la glande sébacée (voy. fig. 521).

C'est là une disposition sur laquelle Hesse[1] a insisté dans ces derniers temps, en faisant remarquer que la contraction du muscle redresseur ne devait pas être sans influence sur l'excrétion du sébum.

Le poil se termine dans son follicule par une extrémité renflée qui peut présenter deux formes principales, suivant lesquelles les poils sont distingués en *poils à bulbe creux* et *poils à bulbe plein*. Dans les poils à bulbe creux, qui ont servi de base aux descriptions classiques, l'extrémité renflée de la racine loge une papille vasculaire (voy. figure 521). Cette papille, *papille du poil*, s'élève du fond du follicule, s'élargit un peu, puis, s'effilant plus ou moins, se termine en cône.

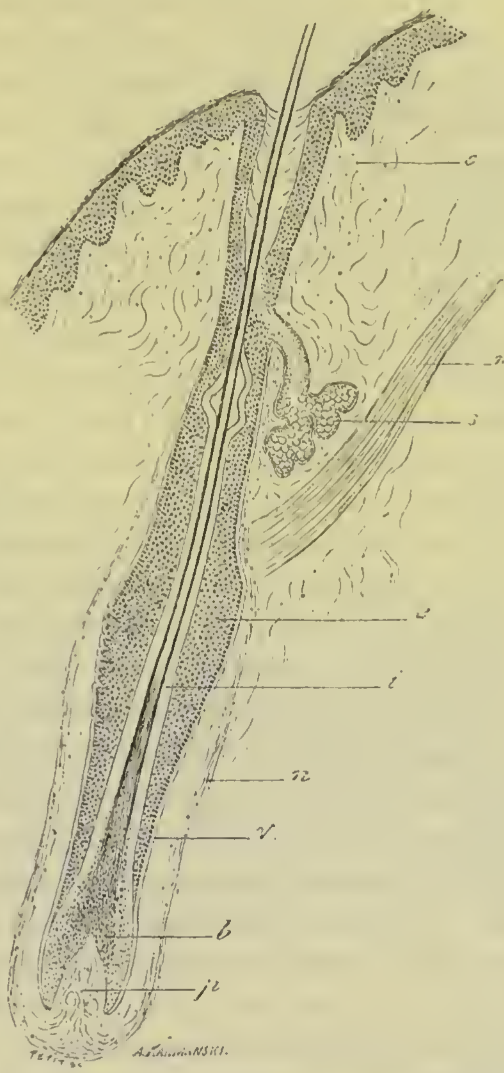


Fig. 521. — Coupe du cuir chevelu perpendiculaire à la surface de la peau et passant par l'axe du poil. Le durcissement de la pièce a été obtenu par l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool. — *c*, col du follicule pileux; *s*, glande sébacée; *m*, muscle redresseur; *e*, gaine épithéliale externe; *i*, gaine épithéliale interne; *b*, bulbe du poil; *p*, sa papille; *n*, enveloppe connective du follicule; *v*, membrane vitrée.

La paroi connective du follicule est composée, de dehors en dedans, d'une couche de fibres longitudinales, d'une couche de fibres annulaires et d'une couche anhiste (*membrane vitrée*) qui correspond à la membrane basale du derme, mais qui est beaucoup plus épaisse, surtout à la partie moyenne du follicule, où on la voit souvent former des plis transversaux.

Le poil est séparé de la paroi du follicule par une couche épithéliale qui varie suivant les régions.

Au-dessus de l'ouverture de la glande sébacée jusqu'à la surface de la peau, dans la portion que l'on désigne sous le nom de *col du follicule pileux*, elle a la même structure que l'épiderme, dont elle est une simple dépendance; elle montre de dehors en dedans toutes les phases de l'évolution épidermique, et le *stratum granulosum* s'y caractérise par la présence d'une très grande quantité d'éléidine, dont on retrouve des gouttes plus ou moins grosses, plus ou moins nombreuses, jusque dans la couche cornée, qui est en rapport direct avec le poil recouvert de son épidermicule.

Au-dessous de l'orifice de la glande sébacée, l'évolution épidermique fait

1. *Hesse*, Zur Kenntniss der Hautdrüsen und ihrer Muskeln. (*Zeitsch. f. Anat. Entwickelungsgeschichte*, t. II, 1876, p. 274.)

complètement défaut, et la couche épithéliale qui représente le corps muqueux ne possède ni *stratum granulosum*, ni couche cornée. Elle constitue ce que l'on nomme la *gaine épithéliale externe de la racine;* très épaisse à la région moyenne du follicule, elle s'amincit d'une manière progressive vers son fond et disparaît au niveau du col de la papille. Elle est séparée du poil par une nouvelle couche cellulaire, la *gaine épithéliale interne de la racine.*

La gaine épithéliale interne de la racine possède à peu près la même épaisseur dans toute son étendue; elle est composée de trois rangées de cellules qui, de dehors en dedans, forment la couche de Henle, la couche de Huxley et la cuticule de la gaine épithéliale interne. Toutes ces cellules sont kératinisées, claires, réfringentes, homogènes, et contiennent un noyau atrophié. Elles ne proviennent pas des cellules de la gaine épithéliale externe qui auraient subi une évolution épidermique de dehors en dedans, comme on pourrait le croire si l'on n'examinait que la région moyenne du follicule. Elles naissent sur la papille aussi bien que les éléments qui forment le poil proprement dit, et, pour saisir les transformations successives qui les ont conduites à la kératinisation, il faut les suivre à partir de leur lieu d'origine.

Ce sont là des notions bien établies aujourd'hui, mais qui ne sont introduites que depuis peu dans la science et que l'on doit principalement aux recherches de Unna [1] et de von Ebner [2].

La papille est recouverte sur toute sa surface de cellules molles, dont les unes, celles qui coiffent son sommet et sa partie renflée, donnent naissance, de dedans en dehors, à la moelle du poil, à son écorce et à son épidermicule, tandis que celles qui constitueront sa gaine épithéliale interne sont implantées au niveau de son col. Entre les cellules d'origine du poil proprement dit et celles qui formeront la gaine épithéliale interne, il y a une différence importante. Tandis que les premières sont constituées par une masse granuleuse qui, sous l'influence du picrocarminate, prend une coloration brune et subissent progressivement une kératinisation analogue à celle des ongles, les secondes contiennent des granulations ou des gouttelettes d'éléidine semblables à celles du *stratum granulosum* de l'épiderme. Ces gouttelettes, à peine marquées dans les cellules de la première rangée, deviennent plus nombreuses et plus grosses dans les rangées suivantes. Plus haut, elles disparaissent tout d'un coup et sont remplacées par une substance homogène qui reste incolore. La kératinisation est produite.

La kératinisation des trois couches de la gaine épithéliale interne, couche de Henle, couche de Huxley, cuticule de la gaine, ne s'effectue pas au même niveau. Alors que les cellules de la couche de Huxley sont encore chargées de gouttes d'éléidine, celles de la couche de Henle sont déjà complètement kératinisées. Ce n'est pas que la kératinisation de ces dernières soit plus hâtive, mais, comme elles naissent un peu plus bas sur le col de la papille,

1. *Unna*, Beiträge zur Histologie und Entwicklungsgesch. der mensch. Oberhaut. (*Arch. f. micr. Anat.*, 1876, t. XII, p. 665.)

2. Von *Ebner*, Mikrosk. Studien ueber Wachsthum und Wechsel der Haare. (*Comptes rendus de l'Acad. de Vienne*, oct. 1876, t. LXXIV.)

leur évolution, tout en suivant la même marche, se termine à un niveau moins élevé.

La kératinisation de la gaine épithéliale interne ne s'effectue pas d'une façon aussi brusque qu'on serait tenté de le croire si l'on se contentait d'examiner des préparations faites après durcissement par l'alcool seul.

Lorsque le durcissement des tissus a été obtenu au moyen du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool, et quand bien même les coupes ont séjourné un temps convenable dans le picrocarminate, l'éléidine ne se colore plus en rouge, mais les cellules qui font suite à celles qui en sont chargées, et dont le corps ne présentait pas de coloration dans les préparations précédentes, sont colorées uniformément en rouge. Cette coloration existe dans une certaine zone, au delà de laquelle les cellules sont de nouveau incolores. De cette réaction, on doit conclure qu'après la disparition de l'éléidine la kératinisation n'est pas encore achevée et qu'elle se complète progressivement.

L'action spéciale du carmin après le traitement par le bichromate d'ammoniaque permet d'arriver à la solution d'un problème intéressant relatif aux rapports de la couche de Henle avec la couche de Huxley. Lorsque l'on a arraché un poil à bulbe creux et que l'on a entraîné avec lui sa gaine épithéliale interne, on peut facilement, par la dissociation au moyen des aiguilles, isoler des lambeaux de la couche de Henle. Les cellules qui les composent sont plates, hexagonales et, bien qu'elles soient soudées par leurs bords, elles laissent entre elles, de distance en distance, des fentes d'inégale étendue. Si l'on a séparé en même temps des portions de la couche de Huxley, celles-ci se montrent sous la forme d'un pavé épithélial parfaitement continu. A quoi correspondent les fentes de la couche de Henle, que quelques auteurs désignent pour cette raison sous le nom de membrane fenêtrée ?

Pour le déterminer, il faut examiner des coupes transversales des poils faites par le procédé suivant :

Un fragment du cuir chevelu, ayant séjourné pendant quelques semaines dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, est traité ensuite par la gomme et l'alcool pour en compléter le durcissement. On en fait alors, soit à main levée, soit à l'aide du microtome, des coupes perpendiculaires à l'axe des poils et par conséquent plus ou moins obliques à la surface de la peau. Comme cela se comprend aisément, le rasoir atteint la racine des différents poils à des hauteurs différentes ; les uns sont sectionnés près de leur bulbe, d'autres au col du follicule, d'autres dans les parties intermédiaires.

En se guidant sur les renseignements acquis par l'examen des coupes longitudinales, il est facile de reconnaître à quel niveau correspond chacune des sections. Celles où la gaine épithéliale interne est occupée tout entière par des granulations d'éléidine incolores proviennent de la région située au niveau ou immédiatement au-dessus de la papille. Dans des poils atteints un peu plus haut, tandis que les cellules de la couche de Huxley sont encore remplies de granulations, on trouve la couche de Henle colorée en rouge

uniforme; plus haut encore, la couche de Henle est complètement kératinisée, homogène et incolore, tandis que la couche de Huxley est colorée en rouge. En examinant plus attentivement une coupe qui présente ce dernier aspect (fig. 522), on voit les cellules de la couche de Huxley envoyer entre les cellules de la couche de Henle des prolongements qui les écartent les unes des autres.

Les fentes de la couche de Henle correspondent donc à des expansions externes des cellules de la couche de Huxley. Il en résulte que ces deux

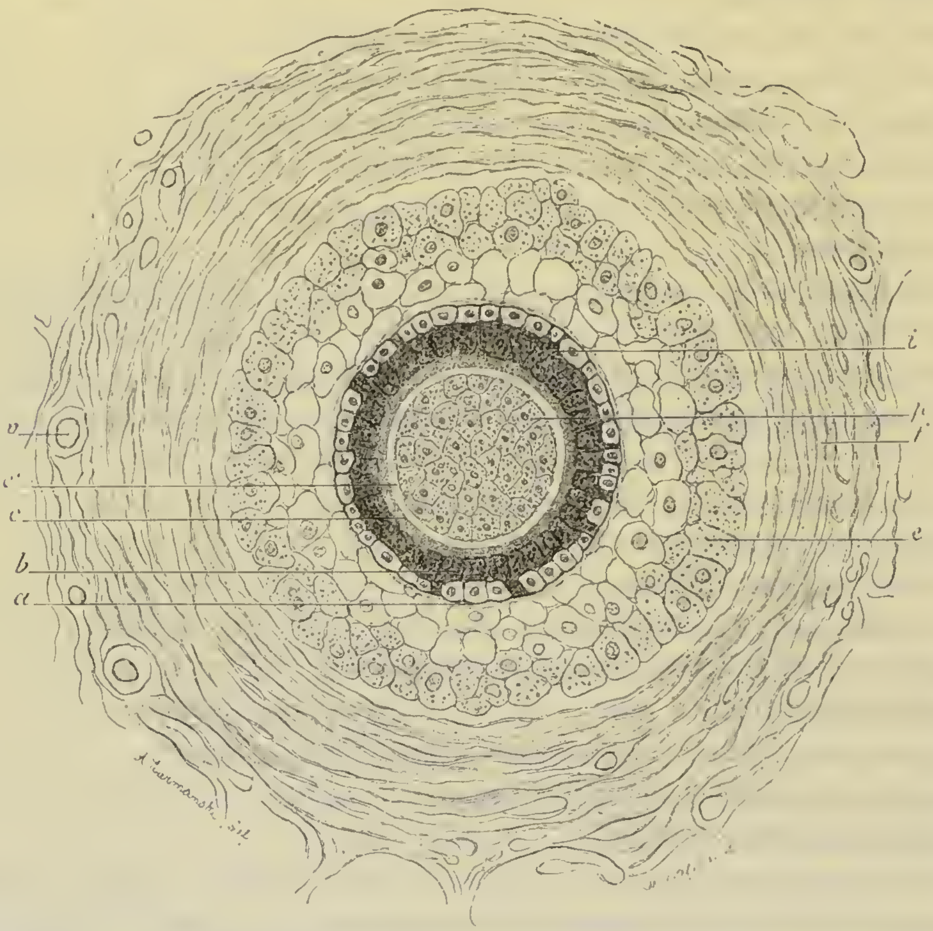


Fig. 522. — Coupe transversale d'un poil à bulbe creux et de son follicule, faite immédiatement au-dessus de la papille après durcissement de la peau par le bichromate d'ammoniaque, la gomme et l'alcool, et colorée par le picrocarminate. — *p*, corps du poil, dont les cellules sont distinctes; *i*, gaine épithéliale interne; *e*, gaine épithéliale externe; *c'*, épidermicule du poil; *c*, cuticule de la gaine épithéliale interne; *b*, cellules de la couche de Huxley; *a*, cellules de la couche de Henle; *f*, enveloppe connective du follicule; *v*, vaisseau sanguin.

couches sont solidement unies et qu'elles ne peuvent nullement glisser l'une sur l'autre dans leur croissance. Cette croissance, ainsi qu'on l'a vu plus haut, se fait suivant l'axe du poil, et son terme, comme il résulte de l'observation de coupes longitudinales, a lieu immédiatement au-dessous de l'embouchure des glandes sébacées. A ce niveau, les cellules de la gaine épithéliale interne se désagrègent pour se mélanger au sébum et aux écailles épidermiques exfoliées du col du follicule.

Les mêmes préparations permettent de reconnaître la structure de la gaine épithéliale externe, les stries scalariformes qui en bordent les cellules et qui

sont moins accusées que dans le corps muqueux de Malpighi, la membrane vitrée sur laquelle reposent les cellules de la première rangée de cette gaine, les deux couches de faisceaux connectifs qui constituent le sac du follicule, et enfin, autour des poils qui sont sectionnés au niveau des glandes sébacées, les muscles redresseurs coupés en travers et caractérisés dès lors par une série de petits champs polygonaux correspondant aux fibres lisses qui les composent (voy. fig. 185).

Parmi les poils à bulbe creux, il y a lieu de distinguer ceux qui ont une



Fig. 525. — Poil à bulbe plein de l'homme. Coupe perpendiculaire à la surface de la peau, passant par l'axe du poil. Cette coupe a été faite après durcissement par l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool. Coloration par la purpurine. — *m*, masse épithéliale occupant le follicule atrophié et au sein de laquelle se trouve fixé le bulbe du poil, *b*; *c*, col du follicule qui a été ouvert accidentellement dans la préparation; *s*, glande sébacée; *o*, bourgeon épithélial au niveau de l'insertion du muscle redresseur.

moelle centrale et ceux qui n'en possèdent pas. La description précédente s'applique à ces derniers seulement.

En ce qui regarde les premiers, il faut ajouter que les cellules formatives de la moelle, qui reposent sur la partie centrale de la papille, contiennent, comme les cellules formatives de la gaine épithéliale interne, des granulations d'éléidine abondantes et volumineuses, ainsi que Waldeyer[1] l'a montré. Cet auteur s'est trompé, cependant, lorsqu'il a soutenu qu'il y avait aussi de

1. *Waldeyer*, Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, inbesondere des Haare und Federn. (*Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe J. Henle*; Bonn, 1882.)

l'éléidine dans les cellules formatives de l'écorce des poils, des plumes et des écailles des reptiles[1].

Les *poils à bulbe plein* sont implantés moins profondément dans le derme ; ils se terminent au sein du follicule, un peu au-dessous de l'embouchure de la glande sébacée et au niveau de l'insertion du muscle redresseur, par une extrémité pleine en forme de massue (voy. fig. 525. Ces poils n'ont pas de gaine épithéliale interne ; leur bulbe, dépourvu de papille, est compris au milieu des cellules qui composent la gaine épithéliale externe, entre lesquelles il envoie souvent des prolongements en forme d'épines, plus ou moins nombreux, plus ou moins saillants. Au-dessous de lui, le follicule, revenu sur lui-même et s'étendant plus ou moins profondément dans le derme, affecte les formes les plus variées. Il est rempli de cellules de la gaine épithéliale externe, et sa membrane vitrée forme généralement des plis nombreux et compliqués. Le poil à bulbe plein n'est autre chose qu'un poil arrivé au terme de son évolution.

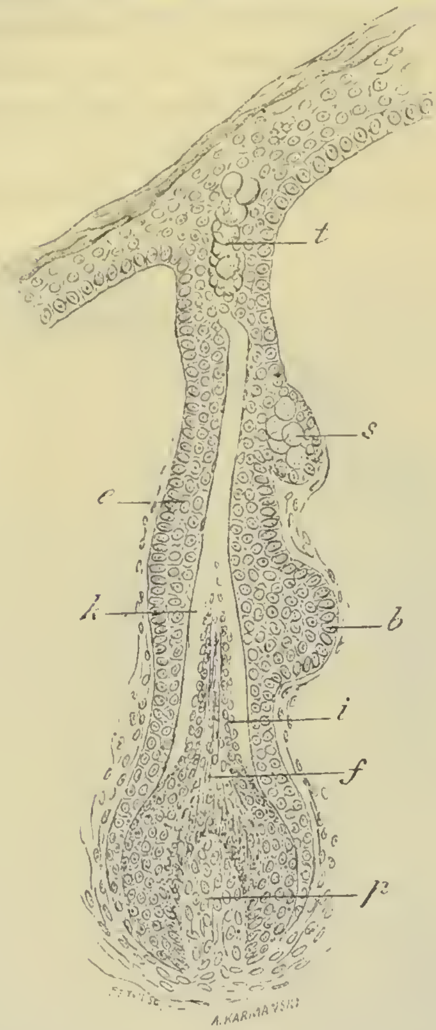


Fig. 524. — Développement du poil chez un embryon humain de 4 mois et demi. Coupe perpendiculaire à la surface de la peau et passant par l'axe du poil, faite après durcissement par le liquide de Müller. Coloration par le picrocarminate. — *p*, papille du poil dont le sommet donne naissance au poil, *f*, tandis que ses parties latérales forment la gaine épithéliale interne, *i* ; *k*, portion kératinisée de cette gaine qui est demeurée incolore ; *e*, gaine épithéliale externe ; *b*, bourgeon de cette gaine destiné à servir d'insertion au muscle redresseur ; *s*, glande sébacée embryonnaire ; *t*, sébum fourni d'une manière indépendante au sein de la masse épithéliale dans la région où s'établira plus tard le col du follicule.

Pour bien comprendre cette évolution, il est nécessaire d'avoir quelques notions sur le développement des poils.

Comme les poils ne se développent pas tous en même temps, on peut observer, dans le cuir chevelu d'un embryon humain de quatre mois environ, tous les stades de leur formation. On les étudiera dans des coupes de la peau faites suivant les procédés indiqués antérieurement.

Dans un premier stade, les cellules de la seconde rangée du corps muqueux, se multipliant d'une manière active en certains points, forment des nodules bien circonscrits (*nodules épithéliaux*), qui refoulent les cellules de la première rangée du côté du derme. Vis-à-vis de chacun de ces petits bourgeons

1. De l'éléidine et de la répartition de cette substance dans la peau, la muqueuse buccale et la muqueuse œsophagienne des Vertébrés. (*Arch. de phys.* 1884, n° 2, p. 125.)

épithéliaux on observe, dans le derme lui-même, un groupe de petites cellules connectives rondes (*nodule connectif*).

A mesure que le bourgeon épithélial s'accroît et s'enfonce dans le derme, il pousse devant lui le nodule connectif.

Dans un stade plus avancé, le bourgeon épithélial se déprime à son extrémité et donne naissance à une cupule dans laquelle se loge le nodule connectif, qui devient ainsi la papille du poil.

C'est seulement alors que les cellules épithéliales de la première rangée, qui coiffent la papille, évoluent de manière à former le poil et sa gaine épithéliale interne, tandis que les autres cellules du bourgeon constituent la gaine épithéliale externe (voy. fig. 524).

La kératinisation qui atteint le poil embryonnaire, encore contenu tout entier dans son follicule, porte également sur le poil proprement dit et sur sa gaine épithéliale interne. Celle-ci, à ce stade du développement, a la forme d'un cône creux appliqué exactement sur le poil. Mais lorsque, poussant ensemble, ils sont arrivés au col du follicule, au niveau de la glande sébacée embryonnaire représentée par un petit bourgeon latéral, le cheminement de la gaine épithéliale interne est arrêté, et le poil, continuant à s'accroître, la traverse. Sa pointe est alors engagée seule au milieu des cellules épithéliales qui remplissent le col du follicule. Celles qui en occupent le centre subissent une transformation graisseuse ou sébacée, bien observée par Goette[1] chez le mouton et qui se rencontre également chez l'homme. Cette transformation, qui précède celle des cellules de la glande sébacée elle-même, favorise le passage de la pointe du poil à travers l'épiderme et son issue définitive.

Étant données ces notions sur le développement du poil, on conçoit que son extrémité naturelle soit effilée en forme de cône. Il est à remarquer cependant que cette portion conique a souvent une longueur bien plus considérable que la hauteur du follicule pileux, ce qui conduit à admettre que la papille croît pendant un certain temps d'une manière régulière, puisque le diamètre du poil dépend nécessairement de celui de la papille sur laquelle il se forme. A cette période de croissance succède une période d'état pendant laquelle la papille, conservant le même volume, donne naissance à la portion cylindrique du poil, plus ou moins longue chez l'homme suivant les régions. Puis la papille diminue, et le poil s'amincit d'une façon correspondante.

Il y a des animaux, la taupe par exemple, dont les poils présentent des parties alternativement renflées et amincies, ce qui indique des alternatives correspondantes d'accroissement et de diminution de la papille, et comme une sorte de rythme dans son évolution. Chez l'homme, ce n'est pas le cas : la diminution de la papille est suivie de son atrophie complète et de la transformation du poil à bulbe creux en poil à bulbe plein. Aussi remarque-t-on que tous les poils à bulbe plein sont amincis dans une portion plus ou moins grande de leur longueur au-dessus de leur bulbe.

Lorsque la papille arrive au terme ultime de son atrophie, le poil qui la

1. *Goette*, Zur Morphologie der Haare. (*Arch. f. micr. Anat.*, t. IV, 1868, p. 273.)

coiffait s'en trouve par là même détaché, et son bulbe creux, revenant sur lui-même tout en achevant de se kératiniser, se transforme de la sorte en un bulbe plein. Ainsi devenu rigide en même temps qu'il est libre dans le fond du follicule, les mouvements que subit ce dernier le font peu à peu monter jusqu'à ce que son extrémité arrive au niveau du muscle redresseur ; en même temps, le follicule revient sur lui-même dans sa partie inférieure [1] (voy. fig. 525).

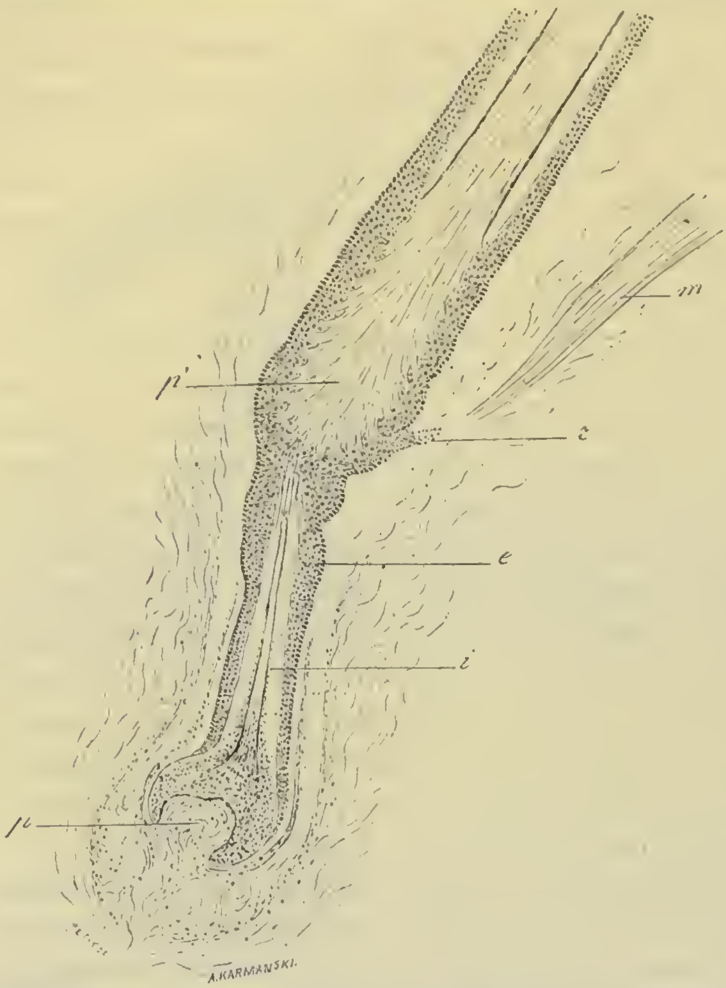


Fig. 525. — Développement du poil de remplacement au-dessous d'un poil à bulbe plein, dans le cuir chevelu de l'homme. Coupe faite après durcissement par l'alcool. Coloration par le picrocarminate. — *p*, papille du nouveau poil; *i*, sa gaine épithéliale interne; *e*, sa gaine épithéliale externe, qui se confond avec celle du poil à bulbe plein, *p'*; *r*, bourgeon épithélial au niveau de l'insertion du muscle redresseur, *m*.

Lorsqu'un poil à bulbe plein est tombé, et même avant sa chute, il se forme d'ordinaire dans le fond du follicule un nouveau poil destiné à le remplacer (voy. fig. 525). Ce nouveau poil se développe à la surface de l'ancienne papille plus ou moins atrophiée ou sur une papille de nouvelle formation, si l'ancienne a disparu. Son mode de développement ne diffère pas de celui du poil embryonnaire. Noyé d'abord, comme ce dernier, au sein des cellules de la gaine épithéliale externe, et entièrement coiffé par la gaine épithéliale interne terminée en pointe et fermée

1. Unna et von Ebner (*loc. cit.*, voy. p. 680), contrairement à Götte, ont soutenu que le poil à bulbe plein résulte de la transformation du poil à bulbe creux. Seulement, tandis qu'Unna prétend que le poil à bulbe plein continue à croître par une transformation successive des cellules de la gaine épithéliale externe, au milieu desquelles il serait comme greffé, von Ebner pense qu'il est arrivé au terme de son évolution et ne pousse plus.

La question peut être tranchée par une expérience facile à réaliser. Parmi les poils de la moustache du lapin adulte, on en trouve un certain nombre qui sont associés deux à deux dans le même follicule. En général, le plus gros est à bulbe plein, et le plus mince, destiné à le remplacer, est à bulbe creux. Si on les coupe tous les deux au ras de la peau, on constate les jours suivants que le plus mince a poussé d'une manière active, tandis que l'autre est absolument arrêté dans sa croissance.

Il sera facile de constater sur soi-même, après avoir rasé les poils du dos de la main, que certains d'entre eux ne poussent pas. Ce sont des poils à bulbe plein.

au-dessus de lui, il s'en dégage seulement quand il arrive au niveau de l'orifice de la glande sébacée.

Dans la coupe transversale d'un follicule passant par sa partie moyenne et contenant en même temps un poil à bulbe plein et un poil à bulbe creux, ce dernier se montre entouré de sa gaine épithéliale interne, tandis que l'autre n'en possède pas et se trouve en rapport direct avec les cellules de la gaine épithéliale externe.

Glandes sébacées. — Ainsi qu'on l'a vu plus haut, la glande sébacée est d'abord un simple bourgeon latéral de la masse épithéliale qui à l'origine représente le follicule pileux (voy. fig. 524). Les cellules centrales de ce bourgeon se remplissent de gouttes huileuses, se détachent, deviennent libres, et, lorsque le poil a percé l'épiderme, elles s'échappent au dehors par le canal qu'il leur a frayé.

La formation des gouttes graisseuses dans l'intérieur des cellules sébacées et l'évolution de ces cellules jusqu'à la formation du sébum peuvent être observées de la manière la plus nette dans des coupes des glandes sébacées de la face de l'homme faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque, la gomme et l'alcool, colorées par l'hématoxyline et l'éosine et montées dans la résine dammare. Le noyau des cellules est coloré en bleu, leur protoplasma est coloré en rose et les granulations graisseuses sont incolores. A mesure que, par suite de l'évolution gandulaire, les cellules sébacées se rapprochent du centre de chaque acinus, elles se chargent de plus en plus de granulations graisseuses et leur noyau s'atrophie (voy. p. 209). Ces noyaux sont réduits d'abord en granulations anguleuses colorées en bleu. Ces granulations disparaissent et la cellule se détruit pour former le sébum.

Les cellules glandulaires de la première rangée reposent sur la membrane propre de la glande, membrane extrêmement mince, qui se continue avec la membrane vitrée du poil et avec la membrane basale du derme.

Glandes sudoripares. — Les glandes sudoripares sont des glandes en tube. Chacune d'elles s'ouvre à la surface de la peau par un pore spécial qui, à la paume des mains et à la plante des pieds, se trouve au sommet d'une crête papillaire. A partir de ce pore, le tube sudoripare parcourt dans l'épiderme un trajet spiral, traverse le derme, atteint ses couches profondes où il s'enroule un grand nombre de fois sur lui-même pour former un glomérule, et se termine en cul-de-sac.

La préparation des glandes sudoripares n'exige pas de procédés spéciaux. On les étudiera avec avantage sur des coupes faites après durcissement par l'alcool, par le bichromate d'ammoniaque, la gomme et l'alcool, ou par l'acide osmique, la gomme et l'alcool.

Contourné d'une façon très compliquée dans chaque glomérule, le tube sudoripare se trouve atteint par le rasoir sur plusieurs points de son trajet et donne dans la coupe autant de champs circulaires ou elliptiques.

Les champs circulaires, qui correspondent à des sections exactement transversales et qui sont les meilleurs pour l'observation, présentent deux

images bien différentes. Dans les uns, le tube sudoripare se montre formé d'une tunique connective à fibres circulaires doublée d'une membrane anhiste et de deux rangées de cellules épithéliales; sa lumière centrale est entourée d'une cuticule que portent à leur surface libre les cellules de la rangée interne. Dans les autres, la structure du tube sudoripare est bien différente; sa lumière, plus ou moins irrégulière, est limitée par une seule couche de cellules épithéliales cylindriques dépourvues de cuticule. Entre ces cellules et la membrane propre se trouve une rangée de cellules musculaires lisses figurant sur la coupe transversale autant de demi-cercles dont la convexité regarde en dedans.

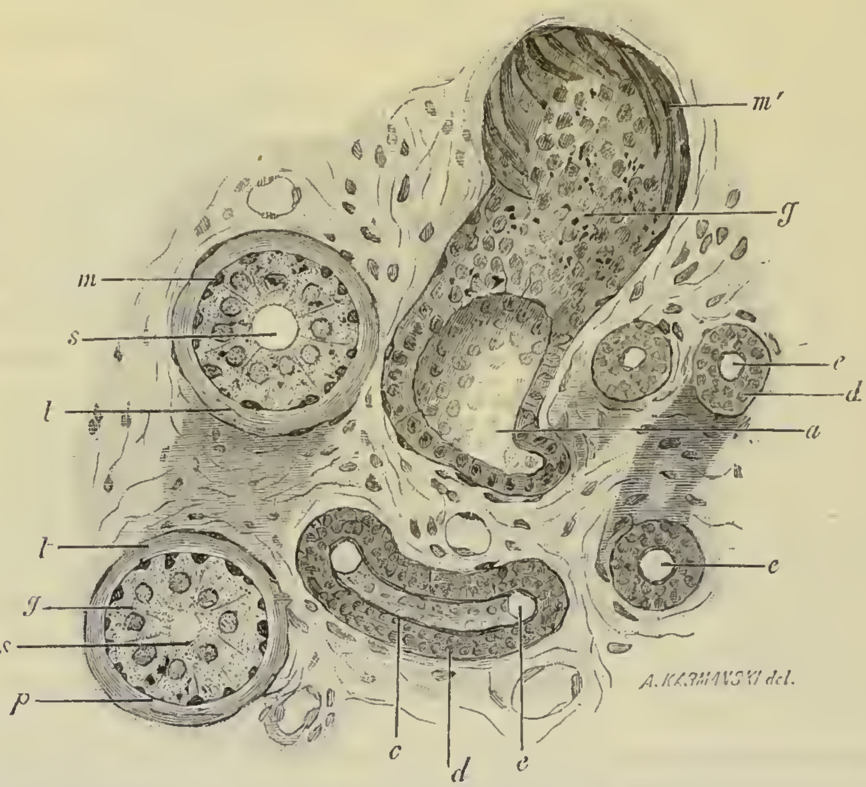


Fig. 326. — Glande sudoripare de la pulpe du doigt de l'homme, après injection forcée dans les vaisseaux sanguins d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Durcissement par l'alcool. Coupe colorée par le picrocarminate et montée dans la résine dammare. — *s*, tube sécréteur; *a*, ampoule du tube sécréteur au point où il s'abouche dans le canal excréteur; *g*, cellules glandulaires contenant des granulations graisseuses, colorées en noir par l'acide osmique; *m*, fibres musculaires; *p*, membrane propre; *l*, tunique connective; *m'*, fibres musculaires coupées obliquement; *e*, canal excréteur; *d*, double rangée de cellules qui le tapissent; *c*, cuticule.

Le tube glandulaire enroulé dans le glomérule est donc composé de deux portions distinctes : celle qui ne montre qu'une seule couche de cellules épithéliales doublée de fibres musculaires lisses est la portion sécrétante de la glande ou *tube sécréteur* ; l'autre, dont la lumière centrale est limitée par une cuticule, est le *canal excréteur* qui, après avoir participé à la formation du glomérule, s'en dégage ensuite pour traverser le derme et l'épiderme et verse au dehors les produits de la sécrétion[1].

1. La distinction de la portion sécrétante et du canal excréteur des glandes sudoripares a été faite pour la première fois par Heynold (*Ueber die Knaüeldrüsen des Menschen.* Arch.

Le canal excréteur atteint le corps muqueux de Malpighi au niveau d'un espace interpapillaire généralement plus large que les autres. Sa tunique connective se continue avec le corps papillaire, et sa membrane propre avec la membrane basale du derme; sa couche épithéliale seule pénètre dans l'épiderme en contractant avec les cellules qui le composent une union très intime et en participant à leur évolution.

Il y a même lieu de remarquer que, dans les cellules du canal excréteur des glandes sudoripares, il se montre des gouttes d'éléidine au-dessous du niveau du *stratum granulosum*, ce qui semble indiquer une évolution plus rapide que celle de l'épiderme en général.

A cette description sommaire il convient d'ajouter l'exposé d'un certain nombre de faits que l'on pourra facilement observer sur des coupes transversales du tube sécréteur :

Les cellules glandulaires présentent une striation longitudinale formée par de fines granulations disposées en séries, analogue à celle que Heidenhain[1] a décrite dans les cellules des tubes contournés du rein. Elles contiennent, en outre, des granulations graisseuses qui se colorent en noir par l'acide osmique. Elles laissent entre elles, en quelques points, des espaces canaliculés qui s'étendent jusqu'à la membrane propre et qui correspondent à ceux qui existent entre les cellules glandulaires du foie et du pancréas[2].

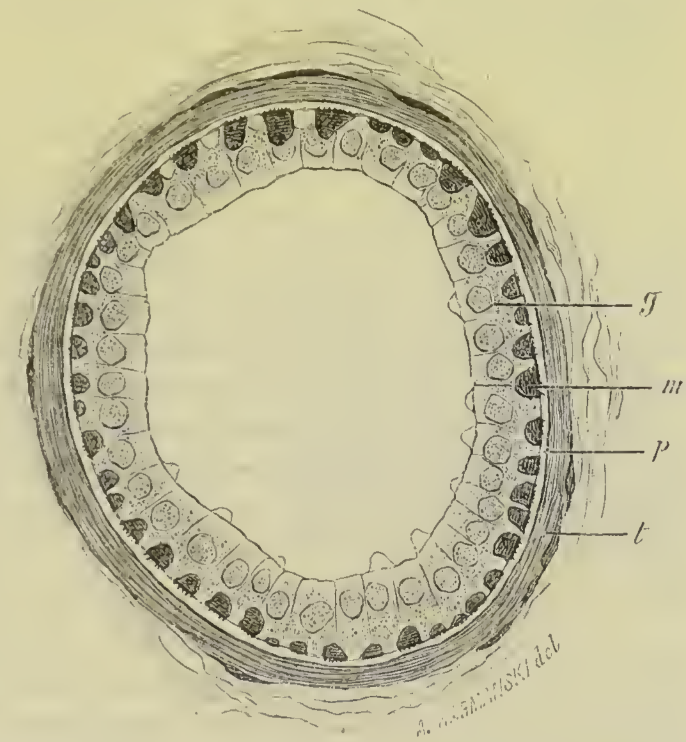


Fig. 527. — Coupe transversale de l'ampoule d'une glande sudoripare de la pulpe du doigt de l'homme. — *g*, cellules glandulaires; *m*, cellule musculaire; *p*, membrane propre; *t*, tunique connective.

Les cellules musculaires du tube sécréteur ne sont pas absolument longitudinales; elles sont légèrement obliques à son axe, autour duquel elles décrivent des spires très allongées. Il en résulte qu'en se contractant elles diminuent à la fois

de Virchow, t. LXI, 1874, p. 77). C'est là une découverte histologique d'une grande importance. Pour en juger il suffira de lire la description de ces glandes dans les traités classiques qui ont été rédigés avant sa publication, par exemple celui de Kölliker, 2e édition française, p. 185, dans lequel il règne à ce sujet la plus grande confusion.

1. *Heidenhain*. Microsc. Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Nieren. (*Arch. f. micr. Anat.*, 1874, p. 1.)

2. Sur la structure des glandes sudoripares. (*Comptes rendus*, 29 décembre 1879.)

sa longueur et son calibre, remplissant ainsi le même rôle que les deux couches longitudinale et transversale que l'on observe dans d'autres canaux, l'intestin par exemple. Elles sont intimement unies à la membrane propre au moyen des crêtes longitudinales qu'elles envoient dans son épaisseur et qui, dans les coupes transversales, donnent des images comparables à celles des dents par lesquelles les cellules de la première rangée du corps muqueux s'insèrent dans la membrane basale du derme. Elles ne forment pas une couche continue ; il reste entre elles des fentes dans lesquelles les cellules glandulaires envoient des prolongements pour se mettre en rapport direct avec la membrane propre. Cette disposition favorise les échanges nécessaires à la sécrétion.

Dans certaines régions du tube sécréteur des glandes sudoripares et principalement au niveau d'une ampoule qui précède le canal excréteur, on voit se dégager, des cellules glandulaires, des gouttes d'une substance homogène qui paraît être du mucus ou de la matière colloïde (voy. fig. 527). Cette substance forme également, à la surface libre des cellules, une bordure plus ou moins épaisse, très développée surtout dans les glandes sudoripares du conduit auditif externe, où elle a été signalée par Heynold[1].

Le développement des glandes sudoripares s'étudie sans difficulté sur des coupes verticales de la peau d'embryons humains de cinq mois environ, faites après l'action successive du bichromate d'ammoniaque, de la gomme et de l'alcool, et colorées par la purpurine. Ces glandes n'apparaissant pas toutes au même moment, on pourra, dans une même préparation, observer plusieurs phases de leur développement. A l'origine, elles se montrent, ainsi que Kölliker l'a observé il y a longtemps déjà, sous la forme d'un bourgeon épithélial plein qui part du corps muqueux pour s'avancer dans le derme et en gagner les couches profondes. En ce point, comme s'il éprouvait de la résistance, il s'incurve, puis se replie sur lui-même et constitue ainsi le premier rudiment du glomérule.

A ce moment, il se forme, au milieu du renflement terminal de la glande, une lumière centrale limitée par un bord net, cuticulaire. Cette lumière gagne peu à peu toute la hauteur du canal excréteur, se poursuit dans les couches épidermiques et finit par s'ouvrir au dehors.

Le tube sécréteur se développe aux dépens du renflement terminal. Dans des coupes perpendiculaires à son axe, vers le sixième mois de la vie intra-utérine, on y distingue la membrane propre, au dedans de laquelle sont disposées deux couches de cellules dont les internes correspondent aux cellules sécrétantes, tandis que les externes concourent vraisemblablement à la formation des cellules contractiles.

Il se développerait ainsi des éléments musculaires aux dépens du feuillet externe du blastoderme.

Terminaisons nerveuses de la peau. — On rencontre dans la peau de l'homme et des mammifères trois sortes de terminaisons nerveuses :

1. *Loc. cit.*, voy. page 688.

Les terminaisons fibrillaires intra-épidermiques, les ménisques tactiles et les corpuscules du tact.

En outre, il existe dans le tissu cellulaire sous-cutané de certaines régions des corpuscules de Pacini.

Terminaisons fibrillaires intra-épidermiques. — La méthode de l'or est la seule qui permette de voir les fibres nerveuses intra-épidermiques.

Le meilleur procédé consiste à employer le mélange de chlorure d'or et d'acide formique préalablement bouilli, puis refroidi (voy. p. 645). Il faut choisir de la peau de la pulpe des doigts tout à fait fraîche, préférablement de la peau de jeunes enfants ou même de nouveau-nés. On en découpera des fragments très petits (ayant 2 à 3 millimètres de côté) et, après les avoir débarrassés avec soin de tout le pannicule adipeux, on les plongera directement dans la solution d'or où on les maintiendra pendant une heure environ. La réduction de l'or sera obtenue à la lumière du jour, dans de l'eau légèrement acétifiée. Lorsqu'elle sera suffisante, les fragments dorés seront plongés dans l'alcool qui achèvera de les durcir. Le séjour dans l'alcool peut être prolongé plusieurs jours et même plusieurs semaines sans inconvénient; il a l'avantage d'arrêter la réduction ultérieure de l'or, ce qui fait que les préparations ne noircissent pas par la suite.



Fig. 528. — Coupe verticlae de la peau de la pulpe du doigt d'un enfant de 50 jours, après l'action du chlorure d'or. — *d*, derme; *m*, corps muqueux; *g*, stratum granulosum; *c*, couche cornée; *n*, nerf afférent; *b*, boutons nerveux terminaux; *l*, cellule de Langerhans.

Les fragments étant convenablement inclus dans le mélange de cire et d'huile (voy. p. 566), on en fait des coupes minces perpendiculaires à la surface de la peau, et on les monte dans de la glycérine additionnée d'acide formique.

Dans ces coupes, on voit des fibres nerveuses colorées en violet foncé s'avancer dans les papilles, en gagner la surface et, après avoir suivi sous la membrane propre un trajet plus ou moins long, plus ou moins compliqué, et quelquefois s'être anastomosées avec des fibres voisines, donner des branches sans myéline qui pénètrent dans l'épiderme. Ces branches se divisent ensuite; leurs rameaux deviennent sinueux, s'anastomosent parfois, se divisent encore, se recourbent en directions diverses et finalement se terminent par des boutons entre les cellules du corps muqueux de Malpighi. Jamais ces boutons ne dépassent le *stratum granulosum*.

Le diamètre, le nombre et la distribution des fibres nerveuses intra-

épidermiques sont extrêmement variables. Il est probable que toutes ne sont pas dessinées par l'or et que certaines d'entre elles ne le sont que partiellement.

Dans les couches profondes de l'épiderme, elles sont assez régulières, mais, à mesure qu'elles se rapprochent des couches superficielles, elles montrent des varicosités de plus en plus accusées, et souvent même elles paraissent constituées à leurs extrémités par de petites boules isolées disposées en série.

Sur leur trajet, dans les couches profondes du corps muqueux, on observe souvent des corpuscules irréguliers, colorés comme elles en violet plus ou moins intense et dont l'affinité pour l'or paraît même être plus considérable que la leur. Aussi arrive-t-il fréquemment que, dans les préparations faites suivant le procédé indiqué plus haut et plus souvent encore dans celles obtenues par le procédé de Cohnheim, ces corpuscules sont imprégnés par l'or, tandis que l'on ne voit pas trace des fibres nerveuses intra-épithéliales.

Dans la peau que l'on recueille sur des membres amputés à la suite d'affections chroniques des articulations, on trouve ces corpuscules en bien plus grand nombre que dans la peau normale ; ils se montrent dans toutes les couches du corps muqueux, mais ils sont plus abondants dans ses régions moyenne et supérieure. Beaucoup d'entre eux sont nettement étoilés ; ils possèdent des prolongements périphériques plus ou moins nombreux, quelquefois ramifiés, qui atteignent jusqu'au voisinage du *stratum granulosum*, et un prolongement central plus volumineux qui va quelquefois jusqu'à la limite du derme.

Ces corpuscules ne sont autre chose que des cellules migratrices, et, s'ils se trouvent le plus souvent sur le trajet des nerfs intra-épidermiques, c'est parce qu'ils pénètrent dans l'épiderme en s'engageant dans des canaux qui paraissent destinés, au moins pour la plupart, à loger ces nerfs. Ces canaux qui, dans les coupes du corps muqueux parallèles à la surface de la peau, se montrent, ainsi que je l'ai indiqué[1], sous la forme de cercles clairs entre les cellules épithéliales, se ramifient à partir de la profondeur vers la superficie, ce qui explique pourquoi les cellules qui s'y sont engagées présentent un seul prolongement central et plusieurs prolongements périphériques ramifiés[2].

On obtient encore de plus belles préparations des terminaisons nerveuses

1. Nouvelles recherches sur le mode d'union des cellules du corps muqueux de Malpighi. (*Comptes rendus*, 20 octobre 1879.)

2. Les nerfs intra-épidermiques et les cellules ramifiées que l'on voit sur leur trajet ont été découverts par Langerhans (*Ueber die Nerven der menschlichen Haut*, Archives de Virchow, 1868, t. XLIV, p. 325) dans la peau de l'homme traitée par le procédé de Cohnheim. Ce procédé ne réussit que très rarement, et encore ne donne-t-il jamais que des résultats fort incomplets. Langerhans considéra les cellules ramifiées comme des cellules nerveuses terminales. Mais bientôt Eberth (*Die Endigung der Hautnerven*, Arch. f. micr. Anat., 1870, t. VI, 225), tout en confirmant la découverte des fibres intra-épidermiques, contesta la nature nerveuse des cellules de Langerhans. Il se demanda si ce n'étaient point là des cellules pigmentaires ramifiées, comme on les connaît dans la peau de certains animaux, ou simplement des cellules migratrices. Merkel (*Tastzellen und Tastkörperchen bei den Hausthieren und beim Menschen*, Arch. f. micr. Anat., t. XI, p. 648) adopta la première hypothèse, tandis qu'Arnstein (*Die Nerven der behaarten Haut*, Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Vienne, 1876, t. LXXIV) admit la seconde.

En réalité, les cellules de Langerhans sont des cellules migratrices : d'abord leur nombre

fibrillaires intra-épidermiques chez certains animaux, par exemple dans le groin du cochon et dans l'extrémité du museau du chat, du rat, de la souris, de la musaraigne, etc.

Le plateau terminal du groin du cochon présente de grandes papilles vasculaires qui, noyées dans l'épiderme, ne se dessinent pas à la surface. Cet épiderme n'est pas de l'épiderme ordinaire ; la kératinisation s'y fait sans la participation de l'éléidine et présente par conséquent une certaine analogie avec celle des poils et des ongles (voy. pages 676 et 680). Cependant, dans le col des follicules des poils tactiles qui y sont implantés et dans une zone étroite autour de ces poils, on trouve à la limite externe du corps muqueux des cellules chargées de gouttes d'éléidine.

Les nerfs destinés à l'épiderme montent dans les papilles ; quelques-uns en gagnent le sommet, d'autres se dirigent vers différents points de leur surface. Ils donnent tous des fibres sans myéline qui pénètrent entre les cellules épithéliales et qui, après un trajet extrêmement variable, pendant lequel elles se sont divisées maintes fois, se terminent par des extrémités libres.

Quelquefois, partant du sommet d'une papille, les fibres intra-épidermiques, isolées ou groupées, forment une sorte de gerbe dont les branches, après s'être divisées et subdivisées, atteignent jusqu'au voisinage de la couche cornée où elles se terminent après s'être recourbées en sens divers.

D'autres fois, une fibre nerveuse, après avoir suivi dans l'épiderme un trajet vertical, s'infléchit, devient horizontale sur un certain parcours, puis remonte vers la surface ou revient au contraire dans les couches profondes. Tout en se comportant ainsi, elle se divise dichotomiquement ou donne naissance à de nombreuses fibres qui s'en dégagent perpendiculairement ou plus ou moins obliquement pour s'anastomoser avec des fibres semblables ou se terminer par des extrémités libres à différents étages du revêtement épidermique.

Les nerfs intra-épidermiques ont été découverts dans le groin du cochon par Moïsisowicz[1] au moyen du procédé de Loewit ; mais le procédé indiqué plus haut pour la préparation des nerfs de l'épiderme de l'homme (voy. page 691) donne des résultats plus constants et plus complets. C'est à l'aide de ce dernier procédé que l'on pourra le plus facilement observer les faits que nous venons de décrire et reconnaître en outre que les fibres nerveuses, régulières dans la première partie de leur trajet intra-épidermique, deviennent ensuite variqueuses et se décomposent, au voisinage de leur terminaison,

est beaucoup plus considérable dans les cas où la peau est irritée ; ensuite, dans des coupes de l'épiderme faites après l'action du bichromate d'ammoniaque et colorées par la purpurine, on constate souvent, au centre de ces cellules, la présence de noyaux bosselés semblables à ceux des cellules lymphatiques, tandis que leur corps, plus ou moins revenu sur lui-même sous l'influence des réactifs, n'occupe plus qu'une partie de la lacune intra-épithéliale qu'il avait élargie dans sa migration.

1. *Moïsisowicz*. Ueber die Nervenendigung in der Epidermis der Saüger. (*Comptes rendus de l'Académie des sciences de Vienne*, t. LXXI, 1876.)

en grains ou en gouttes qui, par suite de l'évolution épithéliale, peuvent être entraînés jusque dans la couche cornée.

Dans l'extrémité du museau des mammifères dont il a été question plus haut, on observe également une très grande irrégularité dans la distribution des fibres nerveuses intra-épithéliales, mais elle n'est jamais aussi accusée que dans le groin du cochon.

En revanche, dans le museau de la taupe, la distribution de ces fibres a une régularité tout à fait exceptionnelle.

L'extrémité du museau de la taupe affecte la forme d'un bourrelet sur lequel on distingue à l'œil nu ou à la loupe de petites élevures régulièrement distribuées qui ne correspondent pas à des papilles, comme on pourrait le croire à priori, mais tout au contraire à des bouchons épidermiques qui s'avancent dans le derme, ainsi qu'on peut le reconnaître facilement sur des coupes faites perpendiculairement à la surface après l'action d'un réactif durcissant, l'acide osmique par exemple.

Ces préparations permettent aussi de constater que l'axe de chacun des bouchons épidermiques est occupé par une colonne formée de deux rangées verticales de cellules épithéliales différentes des autres, nettement limitées en dehors, comme si elles étaient contenues dans un tube, et empiétant les unes sur les autres vers le centre de manière à donner un dessin en zigzag.

Cette colonne et la masse épithéliale qui l'entoure contiennent un grand nombre de fibres nerveuses que l'on peut facilement mettre en évidence au moyen de la méthode de l'or, en employant le procédé déjà indiqué à propos de l'épiderme de l'homme et du groin du cochon, ou mieux encore en faisant agir successivement sur de très petits fragments du tissu le jus de citron et le chlorure d'or, et en obtenant ensuite la réduction dans l'eau acétifiée. Ce dernier procédé a l'avantage de bien ménager les terminaisons nerveuses et par conséquent de faire mieux apprécier tous leurs détails.

Dans des coupes verticales, on voit arriver à la base des bouchons épidermiques des nerfs à myéline, qui échangent leurs fibres pour constituer dans le derme un plexus élégant à larges mailles. Les tubes nerveux qui s'en dégagent perdent leur myéline et, pénétrant dans l'épiderme, donnent naissance à de nombreuses fibres intra-épidermiques qui doivent être distinguées en *centrales*, *marginales* et *périphériques*. Les centrales, au nombre d'une, de deux ou de trois, se logent dans l'axe de la colonne, en s'insinuant entre les cellules qui la composent, et affectent ainsi un trajet en zigzag. Aux angles saillants de ces zigzags, elles portent des bourgeons qui deviennent de plus en plus volumineux à mesure qu'on se rapproche de la surface.

Les fibres marginales, au nombre de vingt environ, cheminent à la surface de la colonne et sont distribuées autour d'elle d'une manière régulière. Lisses d'abord, elles montrent bientôt sur leur côté interne de petits bourgeons qui s'accusent peu à peu et arrivent même à se pédiculiser dans les régions supérieures. Ces bourgeons, également distants pour toutes les fibres, forment des rangées transversales parallèles.

Enfin, en dehors de la colonne centrale, il pénètre dans le bouchon épidermique un grand nombre de fibres nerveuses, fibres périphériques, qui, se divisant et se subdivisant au sein de l'épithélium, constituent une arborisation dont les branches, plus ou moins obliques, se terminent par des boutons.

Comme on le voit par cette description, les bourgeons qui se montrent sur les différentes fibres nerveuses des bouchons épidermiques du museau de la taupe se développent peu à peu à mesure que ces fibres gagnent la surface. Finalement ils se détachent et forment des grains ou des gouttes entièrement libres que l'on peut retrouver jusque dans l'épaisseur de la couche cornée.

Dans les coupes horizontales ou parallèles à la surface de l'épiderme, on peut encore mieux apprécier le nombre et la situation relative des différentes fibres nerveuses. Dans chaque bouchon épidermique, la colonne centrale se montre sous la forme d'un cercle, généralement plus foncé, au milieu duquel on aperçoit les fibres centrales. A sa limite, les fibres marginales forment une couronne régulière, et plus en dehors, au sein de l'épiderme, se remarquent des segments de fibres périphériques irrégulièrement distribués.

Si la coupe a porté sur la partie profonde du bouchon épithélial, on y distingue un plexus nerveux très compliqué qui correspond à la base de la colonne centrale et au sein duquel se trouvent cinq ou six corpuscules particuliers disposés en couronne et dont il sera question plus loin[1].

Disques et ménisques tactiles. — Avant de commencer l'étude des ménisques tactiles des mammifères, il est bon d'examiner d'abord les cellules et les disques tactiles qui se rencontrent dans le bec et la langue du canard domestique. Le bourrelet marginal du bec supérieur et du bec inférieur contient, ainsi que les coussinets latéraux de la langue, un très grand nombre de ces organes.

De petits fragments enlevés dans ces régions, traités d'abord pendant vingt-quatre heures par l'acide osmique à 1 pour 100, dégorgés dans l'eau et placés ensuite dans l'alcool, montrent sur des coupes verticales une grande quantité de cellules tactiles. Ces cellules, qui sont comprises dans les couches superficielles du derme du bec ou dans des papilles du coussinet de la langue, sont grandes, claires, et contiennent un noyau limité par un double contour et muni d'un nucléole volumineux.

1. L'appareil nerveux intra-épidermique du museau de la taupe a été découvert par Eimer (*Die Schnauze der Maulwurfs als Tastwerkzeug*. Arch. f. micr. Anat., t. VII, 1871) qui a considéré la colonne centrale comme une papille connective. S'il en était réellement ainsi, les fibres centrales et marginales ne seraient pas intra-épidermiques. Mais, plus récemment, Moïsisowicz (*Ueber die Nervenendigung in der Epidermis der Saüger*, Comptes rendus de l'Académie de Vienne, t. LXXIII, 1876), en traitant le museau de la taupe par le procédé de Loewit et en faisant une étude plus complète des éléments qu'il contient, a bien montré que toute la colonne centrale est occupée par des cellules épithéliales. J'ai repris moi-même ces observations, je les ai complétées et, en me fondant sur la disposition des fibres nerveuses intra-épithéliales chez différents animaux (*On the Terminations of Nerves in the Epidermis*. Quarterly Journal of micr. Science, 1880, p. 456), j'ai cherché à montrer que les fibres nerveuses, participant à l'évolution de l'épiderme lui-même, deviennent variqueuses au voisinage de leurs extrémités et se décomposent pour donner des grains ou des gouttes qui, devenant libres au sein de la masse épithéliale, sont rejetés dans le monde extérieur avec les produits de l'exfoliation.

Elles sont groupées au nombre de deux, trois ou plus, pour former des corpuscules entourés d'une capsule connective, à l'intérieur de laquelle elles sont disposées perpendiculairement à la surface en une seule rangée.

Dans le cas le plus simple, celui où un corpuscule est formé de deux cellules, ces cellules sont hémisphériques et appliquées l'une contre l'autre par leurs faces planes. Il y arrive un tube nerveux à myéline isolé, caractérisé par ses étranglements annulaires et muni de sa gaine de Schwann et de sa gaine de Henle. Ce tube, dont le trajet est d'abord vertical, s'incurve

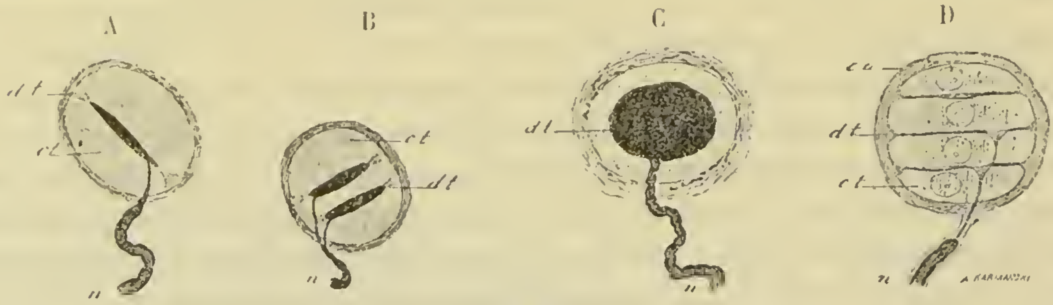


Fig. 529.

A, B et C, trois corpuscules du tact du bec du canard domestique, préparés par la méthode de l'or (jus de citron) : A, vu de profil et formé d'un seul disque tactile et de deux cellules tactiles ; B, vu de trois quarts et formé de deux disques tactiles et de trois cellules ; C, vu de face. D, corpuscule du tact de la langue du canard, préparé avec l'acide osmique. Ce corpuscule, vu de profil, montre quatre cellules et trois disques ; *n*, nerf : *dt*, disque tactile : *ct*, cellule tactile ; *ca*, capsule.

plus ou moins brusquement pour pénétrer horizontalement dans le corpuscule. Il abandonne sa gaine de Henle qui se confond avec la capsule ; sa gaine médullaire s'amincit comme pour former un étranglement et, réduit à son cylindre-axe et à sa gaine de Schwann, il s'insinue entre les deux cellules et s'aplatit pour former un disque, *disque tactile*, dont on appréciera bien mieux la forme et les rapports dans les préparations faites au moyen de la méthode de l'or.

La capsule fibreuse est séparée des cellules tactiles par une couche endothéliale qui se colore en brun sous l'influence de l'acide osmique. Cette couche envoie entre les deux cellules une expansion qui forme un diaphragme annulaire dans lequel le disque tactile est compris.

Pour bien voir ce diaphragme, qui est interrompu seulement en un point correspondant à l'arrivée du nerf, bien apprécier ses rapports avec la couche endothéliale et reconnaître que, contrairement à ce qu'ont soutenu tous les auteurs qui s'en sont occupés, la capsule fibreuse ne participe pas à sa formation, il faut l'examiner avec soin dans des coupes pratiquées après durcissement par l'acide osmique et colorées par le rouge d'aniline.

Les cellules tactiles, surtout lorsque les coupes faites après l'action de l'acide osmique ont été traitées par le chlorure double d'or et de potassium à 1 pour 1000, montrent une structure toute spéciale. On y voit des stries granuleuses qui, étendues de leur surface plane à leur surface convexe, les traversent dans toute leur épaisseur. Ces stries, qui sont comparables à celles que l'on observe dans certaines cellules glandulaires, par exemple celles du tube sécréteur des glandes sudoripares, figurent une gerbe courte

qui serait légèrement resserrée à sa partie moyenne, c'est-à-dire au niveau du noyau. Dans les coupes parallèles à la surface et par conséquent parallèles au disque tactile, faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque et colorées par l'hématoxyline, elles sont représentées par des points disposés en couches concentriques, entourant le noyau comme d'une auréole.

Les disques tactiles et leurs nerfs afférents sont admirablement dessinés dans les préparations obtenues à l'aide de la méthode de l'or, aussi bien dans celles que l'on fait en suivant le procédé du chlorure d'or bouilli avec l'acide formique que dans celui du jus de citron. Les coupes un peu épaisses, rendues transparentes par l'action successive de l'alcool et de l'essence de girofle et montées dans le baume du Canada, sont fort instructives. Le disque tactile, coloré en violet foncé de même que son nerf afférent, est à peu près régulièrement circulaire, ainsi qu'on peut l'apprécier sur les vues de face et de trois quarts (B et C, fig. 529).

Lorsque trois cellules sont empilées pour former un corpuscule, il y a deux disques tactiles; la cellule médiane présente alors deux faces planes qui correspondent aux disques. S'il y a quatre cellules, il y a trois disques tactiles et deux cellules médianes qui ont deux faces aplaties et dont les rapports avec les disques sont les mêmes que dans le cas précédent.

Qu'un corpuscule soit composé de deux, de trois ou d'un plus grand nombre de cellules tactiles, il ne reçoit qu'une fibre nerveuse. Celle-ci, après avoir traversé la capsule, se divise pour donner une branche à chacun des disques tactiles. Dans quelques cas, assez rares du reste, on la voit, après s'être étalée pour former un disque, se reconstituer au pôle opposé, cheminer au-dessous de la capsule pour atteindre l'espace intercellulaire supérieur et y former un disque terminal.

A côté des corpuscules composés, on en observe aussi de compliqués, c'est-à-dire formés de deux corpuscules placés l'un au-dessous de l'autre et qui, compris chacun dans une enveloppe endothéliale spéciale, sont entourés d'une capsule commune. Un corpuscule compliqué de ce genre comprenant deux corpuscules à cellules jumelles, c'est-à-dire quatre cellules, pourra montrer seulement deux disques tactiles, ce qui ne modifie en rien la règle posée précédemment, à savoir que dans les corpuscules composés il y a toujours un nombre de disques tactiles inférieur de un à celui des cellules tactiles.

Dans les préparations obtenues à l'aide de la méthode de l'or, il peut se faire que les cellules tactiles soient plus ou moins colorées; elles peuvent même être assez foncées pour masquer les disques tactiles; mais, d'autre part, on peut les obtenir presque incolore, tandis que les disques tactiles sont fortement colorés. Dans aucun cas, les stries divergentes de ces cellules ne sont dessinées, et la limite du disque tactile est toujours parfaitement nette, de telle sorte que l'on ne doit pas admettre que ces stries représentent des fibrilles du cylindre-axe ayant pénétré dans les cellules.

Cependant le disque tactile a une constitution fibrillaire aussi bien que le cylindre-axe qui s'aplatit pour le former. En effet, dans des coupes passant

par l'axe d'un corpuscule et perpendiculaires à la direction de son nerf afférent, faites après l'action de l'acide osmique et colorées par le chlorure double d'or et de potassium, on observe dans le disque tactile une série de grains qui sont l'expression optique des fibrilles cylindraxiles coupées perpendiculairement à leur direction, tandis qu'au voisinage de sa surface se trouve une ligne claire, continue, qui correspond à la membrane de Schwann ou plutôt au protoplasma qui la double[1].

Dans l'épiderme du groin du cochon il existe, outre les fibres nerveuses intra-épithéliales, d'autres terminaisons nerveuses du plus grand intérêt.

A l'extrémité profonde de quelques-uns des bouchons épidermiques interpapillaires, on observe des cellules spéciales qui, dans les coupes verticales faites après l'action de l'acide osmique, paraissent formées d'un protoplasma

1. Les corpuscules tactiles du bec du canard ont été observés pour la première fois par Grandry (*Recherches sur les corpuscules de Pacini*, Journal de l'Anatomie, 1869, p. 395) qui, tout en soupçonnant qu'il s'agissait bien là d'organes nerveux terminaux, n'a pas compris leur structure et n'a pu voir comment les nerfs s'y terminent.

Plus tard, Merkel (*Tastzellen und Tastkörperchen bei den Saügethieren und beim Menschen*, Arch. f. micr. Anat., t. XI, 1875), en vertu d'une conception théorique, considéra chacune des cellules qui composent ces corpuscules comme une cellule ganglionnaire périphérique à laquelle arriverait une fibre nerveuse distincte, se perdant dans son intérieur et y formant une série de stries concentriques semblables à celles qui existent dans les cellules ganglionnaires.

Dans une note à l'Académie des sciences (*De la terminaison des nerfs dans les corpuscules du tact*, Comptes rendus, 1877, t. LXXXV, p. 1020), j'ai fait connaître le disque tactile et ses rapports avec les cellules, et j'ai montré ainsi que chaque cellule ne possède pas une fibre nerveuse distincte, comme l'avait soutenu Merkel. En outre, j'ai indiqué la disposition de la striation, qui ne rappelle en rien celle des cellules ganglionnaires. Lorsque cette note a paru, personne, ni en France ni en Allemagne, autant que mes renseignements sont exacts, n'avait connaissance du grand ouvrage d'A. Key et Retzius (*Studien in der Anatomie des Nervensystems*, 2e partie, Stockholm, 1876), bien qu'il porte une date antérieure.

Les recherches des deux auteurs suédois et les miennes sont complètement indépendantes, ce dont on se convaincra aisément par la lecture des originaux. Comme moi, ils ont reconnu l'existence du disque tactile, mais, n'ayant pas employé l'or dans leurs recherches, ils en ont donné une description fautive. Ils n'ont rien vu de la structure des cellules tactiles.

Hesse (*Ueber die Tastkugeln des Entenschnabels*, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1878) et Merkel (*Die Tastzellen der Ente*, Arch. f. micr. Anat., t. XV, 1878) ont décrit en même temps le diaphragme annulaire dans l'ouverture duquel se trouve compris le disque tactile et l'ont considéré comme une expansion de la capsule fibreuse du corpuscule. En outre, Merkel, forcé d'abandonner sa conception première sur les rapports des cellules du tact avec les nerfs, acceptant l'existence du disque tactile et des stries des cellules telles que je les avais décrites, suppose que ces stries correspondent à des fibrilles nerveuses émanées du disque tactile. Dans un ouvrage plus récent encore (*Ueber die Endigung der sensiblen Nerven in der Haut der Wirbelthiere*, Rostock, 1880), il conserve cette manière de voir, qui cependant n'a été acceptée par aucun des histologistes qui se sont occupés de la question, par exemple Hesse (*loc. cit.*) et Izquierdo (*Beiträge zur Kenntniss der sensiblen Nerven*, Diss. Strasb., 1879).

Comme on l'a vu dans le texte courant, la striation des cellules du tact ressemble bien plus à celle des cellules glandulaires qu'à celle des cellules nerveuses, et à l'époque où je les ai décrites (*loc. cit.*), frappé de cette ressemblance, j'ai pensé que l'on pouvait, sans trop de témérité, les considérer comme destinées à mettre en action, sous l'influence de la pression, un agent spécial, physique ou chimique, qui exciterait le disque tactile. Rien ne me force aujourd'hui à abandonner cette hypothèse, dont l'avantage est de rendre compte de la sensation tactile qui, comme on le sait, est bien différente de la douleur.

clair, limité par un contourn et et contenant un noyau réfringent. Ces cellules, qui sont disséminées entre les cellules épithéliales, sont ovoïdes, et leur grand diamètre est parallèle à la surface du tégument. Elles ont été découvertes par Merkel[1] qui, les comparant aux cellules des corpuscules du tact du bec du canard, les a considérées comme des cellules ganglionnaires périphériques, dans chacune desquelles se terminerait une fibre nerveuse distincte.

Dans les préparations faites à l'aide de l'acide osmique, il est impossible de saisir les rapports qui existent entre ces cellules et les fibres nerveuses, et c'est la raison pour laquelle Merkel, qui s'est limité à cette méthode, ne les a pas compris.

Dans des coupes verticales du groin du cochon, traité par le chlorure d'or suivant les procédés déjà indiqués, on voit des nerfs composés de plusieurs fibres à myéline s'avancer des profondeurs du derme vers les bouchons



Fig. 550. — Coupe de la peau du groin du cochon, faite perpendiculairement à la surface. Méthode de l'or avec le jus de citron. — *bb*, bouchons épidermiques interpapillaires dépourvus de ménisques tactiles; *a*, bouchon épidermique muni de terminaisons nerveuses, sous forme de ménisques tactiles; *n*, nerf qui s'y rend ; *d*, tissu conjonctif du derme.

épidermiques munis de cellules tactiles (fig. 550) et, avant de les atteindre, se replier sur eux-mêmes ou décrire un ou deux tours de spire. Les fibres qui les composent perdent leur myéline au moment où elles traversent la membrane basale, puis elles se divisent, et leurs branches, après avoir décrit un trajet le plus souvent sinueux, atteignent les cellules tactiles au niveau de l'un de leurs bords et, se renflant en même temps qu'elles s'étalent, forment au-dessous de chacune d'elles un ménisque concave-convexe qui en embrasse la face inférieure comme une sorte de cupule[2].

Ces différents ménisques, *ménisques tactiles*, dont la concavité regarde toujours la face libre de l'épiderme, font partie d'une arborisation nerveuse terminale dont les branches s'anastomosent les unes avec les autres pour former un plexus plus ou moins compliqué (fig. 551).

1. *Merkel*, Tastzellen und Tastkörperchen bei den Saügethieren und beim Menschen (*Arch. f. micr. Anat.*, t. XI, 1875.)

2. Nouvelles recherches sur les corpuscules du tact. (*Comptes rendus*, 27 décembre 1880.)

Dans les coupes horizontales passant au niveau de l'extrémité profonde des bouchons épidermiques, les ménisques tactiles se montrent de face, et l'on reconnaît alors qu'ils sont irrégulièrement étoilés.

De ces observations, il résulte que les cellules tactiles du groin du cochon, bien loin d'être des cellules ganglionnaires terminales, sont simplement des éléments cellulaires annexés aux ménisques terminaux, vis-à-vis desquels ils semblent jouer le même rôle que les cellules tactiles du bec des palmipèdes vis-à-vis des disques qui leur sont interposés.



Fig. 551. — Une portion de la préparation qui a été représentée dans la figure précédente, vue à un fort grossissement. — *n*, fibre nerveuse afférente; *m*, ménisques tactiles; *a*, cellules tactiles; *c*, cellules épithéliales.

Des terminaisons nerveuses analogues à celles qui se montrent dans l'extrémité profonde des bouchons épidermiques du groin du cochon se rencontrent chez un très grand nombre de mammifères, notamment chez la taupe, où les cinq ou six corpuscules disposés en couronne à la base des colonnes épithéliales du museau (voy. p. 695) correspondent à des ménisques tactiles.



Fig. 552. — Coupe de la peau de la pulpe du doigt d'un enfant, faite perpendiculairement à la surface, après l'action du jus de citron et du chlorure d'or. La réduction de l'or a été produite par l'acide formique. — *s*, canal d'une glande sudoripare; *pp*, papilles dénudées; *n* et *n'*, tubes nerveux à myéline dont les terminaisons par des ménisques tactiles sont hédériformes.

Dans les différentes régions de la peau de l'homme, on peut observer des terminaisons nerveuses semblables; seulement, ainsi que l'a fait remarquer Merkel, les cellules tactiles s'y rencontrent aussi bien dans les couches super-

ficielles du derme que dans l'épiderme. Dans la pulpe des doigts traitée par la méthode de l'or en suivant le procédé indiqué plus haut à propos des fibres nerveuses intra-épidermiques (voy. page 691), on voit arriver dans le voisinage du canal excréteur des glandes sudoripares une ou plusieurs fibres à myéline qui, après s'être contournées d'une manière variée, atteignent l'espace interpapillaire élargi où le canal glandulaire débouche dans l'épiderme. Au delà, elles perdent leur myéline et, se divisant et se subdivisant, elles constituent une arborisation d'une grande élégance qui couvre de ses branches la surface du derme et dont les derniers rameaux se terminent par des ménisques tactiles qui simulent par leur forme des feuilles de lierre (fig. 552). Comme l'ensemble de ces terminaisons rappelle assez bien par sa disposition un lierre rampant à la surface d'une muraille, on pourrait leur donner le nom de *terminaisons hédériformes*.

Il est probable que tous les ménisques tactiles ne correspondent pas à des cellules. En effet, si l'on compare ces préparations, dans lesquelles on ne peut distinguer les cellules tactiles, à des coupes faites dans les mêmes régions après l'action de l'acide osmique, on constate que le nombre de ces cellules n'est nullement en rapport avec celui des petits ménisques de l'arborisation hédériforme, tels qu'ils sont dessinés par le chlorure d'or.

Poils tactiles. — Les poils tactiles n'existent pas chez l'homme, mais ils se rencontrent chez presque tous les mammifères. Ils forment la moustache du chien, du chat, du lapin, de la souris, etc. Dans le groin du cochon, on en observe aussi qui, disséminés sur toute la surface, sont très courts et conviennent tout spécialement pour l'étude des terminaisons nerveuses.

Les poils tactiles sont caractérisés par un sinus caverneux qui, sur une coupe transversale de leur follicule, apparaît à l'œil nu comme un petit espace annulaire d'où s'échappe du sang. Sur une coupe longitudinale faite après durcissement par un des procédés habituels et passant par l'axe du poil, ce sinus caverneux se montre sous la forme d'une cavité limitée en dehors par une capsule fibreuse épaisse, dont les faisceaux constitutifs sont coupés dans différentes directions. Cette cavité est cloisonnée dans sa région inférieure par des travées connectives tapissées d'endothélium vasculaire et s'étendant de la capsule fibreuse à la gaine connective du poil. Dans sa région supérieure, elle est occupée en grande partie par un bourrelet formé de tissu muqueux, *bourrelet annulaire*, qui naît de sa paroi interne et qui forme un relief plus ou moins accusé suivant les animaux; chez certains d'entre eux, le lapin par exemple, il est réduit à quelques bourgeons.

Immédiatement au-dessus du bourrelet annulaire, la couche connective qui double la membrane vitrée s'élargit progressivement jusqu'à la voûte du sinus sanguin et forme ce qu'on désigne sous le nom de *corps conique*.

A chaque poil tactile arrivent un ou deux petits troncs nerveux qui atteignent son follicule sur le côté et dans son tiers inférieur. Ils traversent obliquement de bas en haut la capsule et s'engagent dans les travées du sinus

caverneux; après s'y être divisés, ils gagnent l'enveloppe connective immédiate du poil et s'y distribuent régulièrement au-dessous du bourrelet annulaire.

Si la coupe a été faite après action de l'acide osmique et durcissement subséquent par la gomme et l'alcool, ce qui permet de l'obtenir très mince, on verra sans difficulté les fibres nerveuses, qui ont conservé leur myéline jusqu'à la membrane vitrée, s'en dépouiller au niveau de cette membrane et la traverser pour arriver dans la gaine épithéliale externe.

Entre les cellules cylindriques qui forment la première rangée de cette gaine, se trouvent, au niveau du bourrelet annulaire et de l'origine du corps conique, des cellules ovoïdes, claires, semblables à celles des bouchons épidermiques du groin du cochon et qui, de même que ces dernières, ont été découvertes par Merkel. Leur grand diamètre n'est pas absolument transversal; en général, il est un peu oblique de dehors en dedans et de haut en bas.

Dans les coupes faites après l'action de l'acide osmique, il est impossible de saisir le rapport des nerfs avec ces cellules. Merkel a tranché la difficulté en affirmant que chacune d'elles reçoit directement une fibre nerveuse dont elle est la terminaison.

La méthode de l'or permet de constater qu'il en est tout autrement. Pour l'appliquer à l'étude des poils tactiles, il faut les isoler avec leurs bulbes pileux, inciser leur capsule, les maintenir pendant une heure environ dans le chlorure d'or additionné d'acide formique (voy. p. 645), obtenir la réduction de l'or dans l'eau légèrement acétifiée et compléter le durcissement par un séjour convenable dans l'alcool. On en fait ensuite des coupes longitudinales et transversales.



Fig. 555. — Poil tactile de la moustache du lapin, traité par le chlorure d'or et l'acide formique. Coupe tangentielle comprenant la membrane vitrée et la gaine épithéliale externe sous-jacente. — *n*, fibre nerveuse donnant une arborisation, *a*, sur les branches de laquelle se trouvent des ménisques tactiles, *t*.

Parmi les coupes longitudinales, il faut choisir celles qui passent exactement par l'axe du poil et celles qui, étant tangentielles à la membrane vitrée, comprennent cette membrane et la gaine épithéliale externe sous-jacente. Ces dernières (fig. 555) sont les plus instructives; elles montrent, sur la vue de face de la gaine épithéliale externe, un grand nombre de ménisques tactiles colorés en violet foncé, dont la concavité, regardant en bas et un peu en dehors, embrasse les cel-

lules tactiles. Ces ménisques sont reliés les uns aux autres par des branches anastomotiques nombreuses et se trouvent ainsi compris dans une arborisation ou un plexus terminal qui peut être considéré comme l'expansion ultime des fibres nerveuses.

Dans des coupes passant par l'axe du poil, on peut suivre les fibres nerveuses à travers la membrane vitrée, les voir se diviser au delà, s'avancer dans la gaine épithéliale externe, dépasser les cellules de la première rangée, puis se recourber en forme d'arc et revenir vers la membrane vitrée pour s'attacher aux ménisques tactiles. Ces préparations sont également bonnes pour bien apprécier l'orientation des ménisques. Elles permettent encore de constater que les fibres nerveuses qui arrivent au poil au-dessous du bourrelet annulaire ne traversent pas toutes la membrane vitrée; on en remarque qui s'arrêtent à sa surface externe et qui, s'aplatissant contre elle, se terminent par des bourgeons en forme de spatule.

Parmi les coupes transversales, les seules qui contiennent des ménisques tactiles sont celles qui ont atteint le poil au niveau du bourrelet annulaire et du corps conique. On y voit les ménisques former au-dessous de la membrane vitrée une couronne assez régulière, et les fibres nerveuses afférentes, après avoir traversé cette membrane, se diviser en fourche pour fournir des branches à plusieurs d'entre eux (voy. fig. 554).

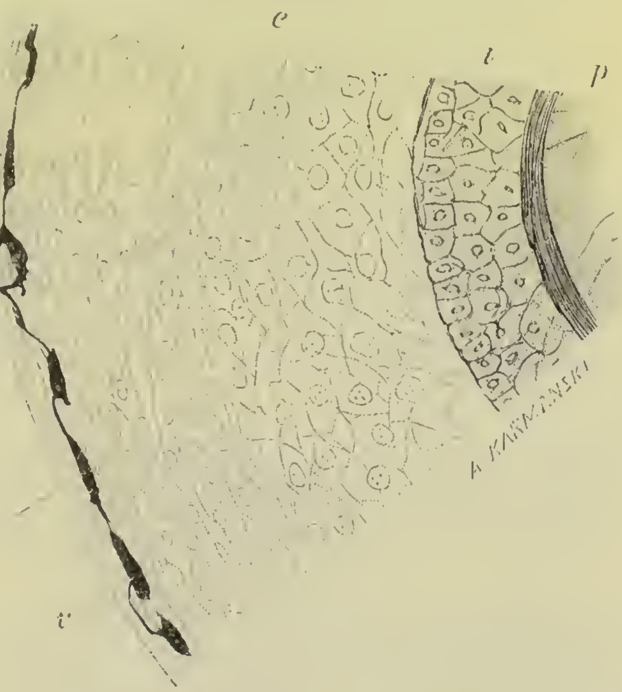


Fig. 554. — Poil tactile de la moustache du lapin, traité par le chlorure d'or et l'acide formique. Coupe transversale au niveau du bourrelet annulaire. — *n*, fibre nerveuse; *m*, ménisque tactile; *e*, gaine épithéliale externe; *i*, gaine épithéliale interne; *p*, poil; *v*, membrane vitrée.

Enfin, chez le lapin en particulier, toutes les fibres nerveuses qui ont traversé la membrane vitrée ne se mettent pas en rapport avec des cellules tactiles. Quelques-unes d'entre elles, après s'être avancées plus ou moins loin dans la gaine épithéliale externe, décrivent une courbe, se divisent encore et reviennent vers la face interne de la membrane vitrée, où elles se terminent librement entre les cellules épithéliales[1].

1. On trouvera des indications suffisantes sur les principaux travaux qui ont été consacrés aux poils tactiles et aux nerfs qui s'y terminent (ceux de Leydig, Odénius, Burckhardt, Paladino, Jobert, Sertoli, Bizzozero, Dietl, Schoebl, Redtel, Moïsisowicz, Merkel et Loewe) dans un mémoire publié récemment par Bonnet (*Studien über die Innervation der*

Dans les poils ordinaires traités par la méthode de l'or, on voit de petits troncs nerveux ou même le plus souvent des fibres à myéline isolées atteindre les follicules pileux au-dessous de l'embouchure des glandes sébacées, perdre leur gaine médullaire et se diviser pour donner naissance à des fibres annulaires et longitudinales. Les fibres longitudinales, qui sont tou-

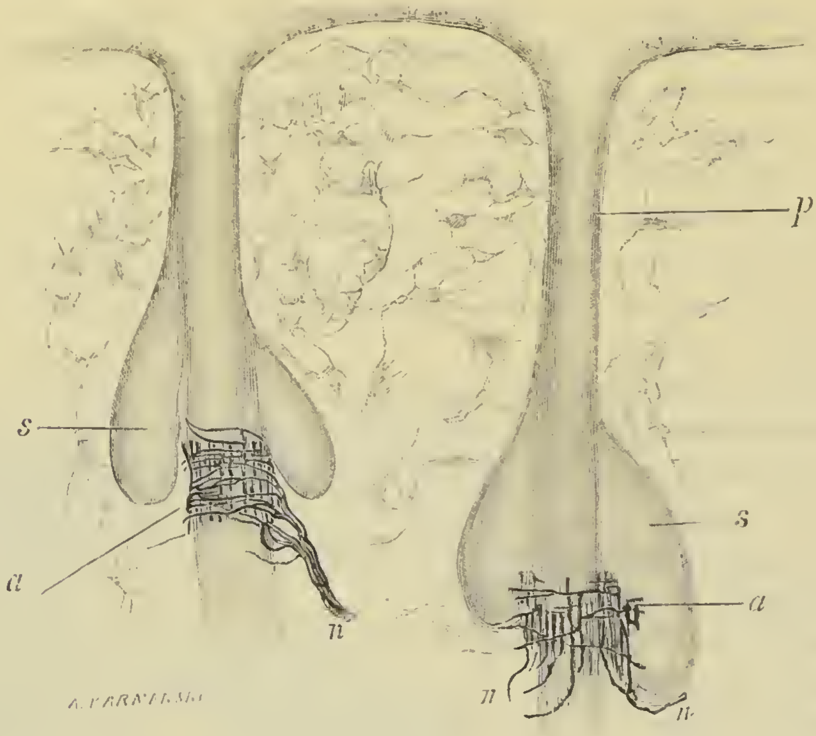


Fig. 355. — Deux poils du chat adulte observés dans une coupe verticale de la peau, traitée par le chlorure d'or et l'acide formique. — *p*, poil; *s*, glandes sébacées; *n*, fibres nerveuses qui se rendent au-dessous des glandes sébacées dans le petit appareil nerveux terminal *a*, constitué par des branches annulaires et des branches longitudinales.

jours en dedans des fibres annulaires, montent vers la surface de la peau dans des plis de la membrane vitrée et se terminent toutes à peu près au même niveau par des extrémités élargies et aplaties.

La disposition générale de ce petit appareil nerveux se reconnaît bien dans des coupes de la peau parallèles à l'axe des poils (voy. fig. 355), mais le rapport des fibres annulaires avec les longitudinales s'apprécie beaucoup mieux dans des coupes transversales au niveau de l'anneau nerveux[1].

Haarbalge der Hausthiere. Morphologische Jahrbücher, t. IV, 1878). Ce dernier auteur, qui a fait des préparations de poils tactiles de différents animaux après les avoir dorés par le procédé de Loewit, admet que les nerfs traversent la membrane vitrée et arrivent directement dans les petits organes que Merkel a décrits comme des cellules; mais il considère ces organes comme de simples bourgeons nerveux terminaux.

1. Arnstein (*Die Nerven der behaarten Haut.* Comptes rendus de Vienne, IIIe Section. oct. 1876) est le premier auteur qui ait donné une bonne description des terminaisons nerveuses dans les poils ordinaires. Il les a étudiés dans la peau de la souris en employant la méthode de l'or suivant un procédé qui lui est personnel. Mais antérieurement Jobert (*Études d'anatomie comparée sur les organes du toucher.* Annales des sciences naturelles, t. XVI, 1872) et ensuite Schöbl (*Das aüssere Ohr des Igels als Tastorgan.* Arch. f. microsc.

Corpuscules du tact. — Les corpuscules du tact occupent chez l'homme certaines papilles de la peau ; ils sont très abondants à la pulpe des doigts et des orteils, surtout au niveau de la phalangette. On peut les distinguer et déterminer leurs rapports dans des coupes de la peau fraîche, desséchée, ou durcie par n'importe lequel des procédés classiques : mais, pour en apprécier la structure, il faut employer l'acide osmique et le chlorure d'or.

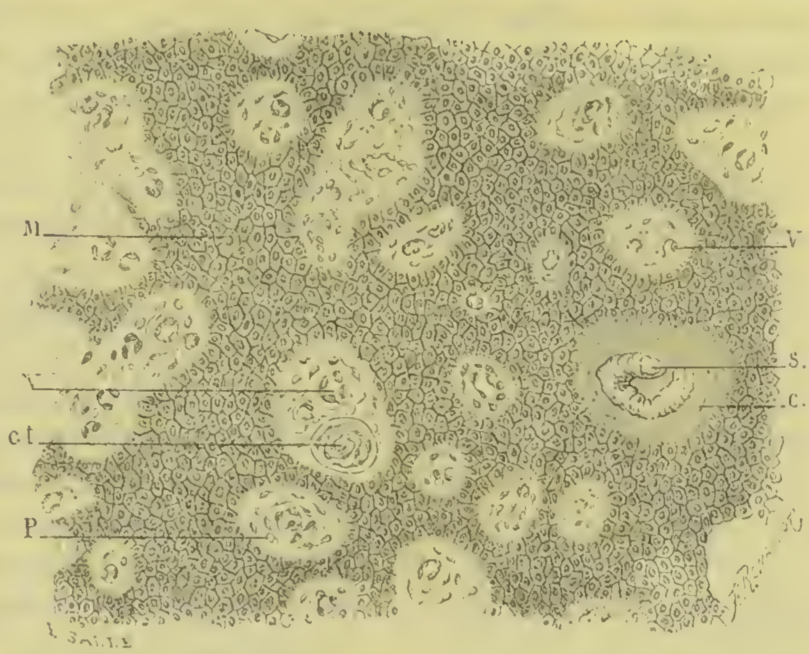


Fig. 556. — Peau de la face palmaire de l'indicateur de l'homme. Section transversale faite après injection vasculaire d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, et durcissement par la gomme et l'alcool. Coloration au picrocarminate. — P, papilles ; M, masse épithéliale interpapillaire ; V, vaisseaux sanguins coupés en travers ; S, conduit de glande sudoripare ; CS, région cornée circonvoisine ; *ct*, corpuscule du tact. — 100 d.

De petits fragments de la peau de la pulpe du doigt, tout à fait fraîche et complètement débarrassée du pannicule adipeux, sont mis pendant vingt-quatre heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 ; puis, après les avoir fait dégorger dans l'eau, on les place pendant 24 heures dans l'alcool. Dans les coupes verticales que l'on en fait ensuite, on reconnaît aisément les corpuscules du tact et leurs nerfs afférents.

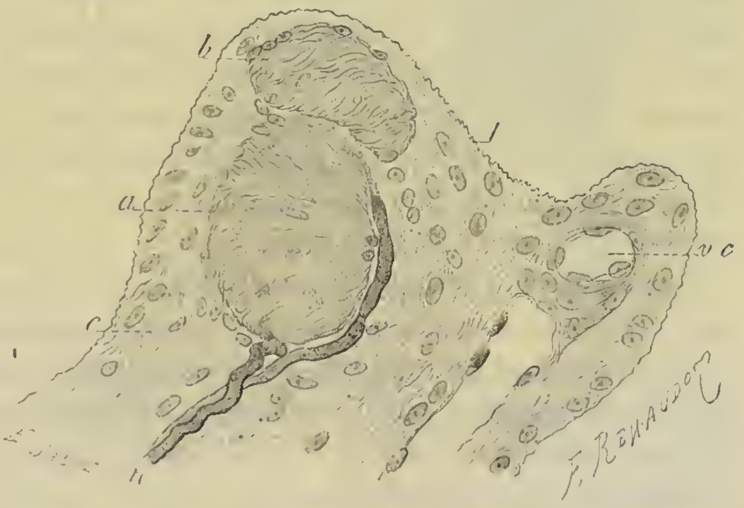


Fig. 557. — Papille du doigt de l'homme, contenant un corpuscule du tact composé de deux lobes. Coupe après l'action successive de l'acide osmique et de l'alcool. — *n*, nerf afférent ; *a*, lobe inférieur du corpuscule ; *b*, son lobe supérieur ; *c*, tissu connectif de la papille ; *l*, plis de la membrane basale à la surface de la papille *v*, vaisseau sanguin.

Ces corpuscules remplissent à peu près les papilles qui les contiennent ; ils sont formés d'un seul lobe ou de deux ou trois lobes superposés, ainsi que cela

anat., t. VIII, 1872) avaient vu les nerfs arriver aux follicules pileux au-dessous de l'embouchure des glandes sébacées et s'enrouler autour d'eux pour former un anneau.

a été reconnu il y a quelques années par Thin[1]. Ces lobes, qui se touchent ou qui sont légèrement écartés les uns des autres, se regardent par des faces plus ou moins aplaties, transversales ou obliques. Ils constituent autant de corpuscules et reçoivent chacun une fibre nerveuse distincte. Cependant les fibres qui se rendent aux différents lobes d'un corpuscule composé peuvent provenir d'un même tube à myéline qui s'est divisé en deux ou en trois branches au niveau d'un étranglement annulaire (voy. fig. 358).



Fig. 358. — Tube nerveux afférent d'un corpuscule du tact de l'homme, composé de trois lobes, observé dans une coupe de la peau faite après l'action successive de l'acide osmique et de l'alcool. — *n*, nerf afférent ; *ea*, étranglement annulaire au niveau duquel le tube nerveux afférent se divise en trois branches.

Lorsqu'un corpuscule est simple, la fibre nerveuse qui lui est destinée l'atteint à son extrémité profonde, généralement un peu sur le côté, et semble s'y perdre après avoir suivi à sa surface un trajet plus ou moins sinueux. Lorsqu'il est composé de plusieurs lobes, les fibres nerveuses destinées aux lobes supérieurs contournent les inférieurs de la manière la plus variée.

Les rapports des corpuscules du tact avec leurs fibres nerveuses afférentes se voient bien, surtout si la coupe est assez épaisse pour les comprendre tout entiers; mais on ne distingue alors de leur structure que des stries transversales plus ou moins régulières, sur la signification desquelles on a longtemps discuté. Pour s'éclairer sur cette structure, il ne suffit pas d'examiner des coupes dans lesquelles les corpuscules soient compris, il faut en observer dans lesquelles ils soient sectionnés eux-mêmes en tranches minces. On reconnait alors, ainsi que Langerhans[2] l'a dit il y a quelques années, que ces stries sont produites en majeure partie par des fibres nerveuses qui ont une direction transversale et dans la constitution desquelles il entre de la myéline.

Chez les jeunes sujets, les enfants d'un an par exemple, on remarque entre les fibres nerveuses des noyaux assez volumineux légèrement aplatis de haut en bas et entourés d'une masse protoplasmique dont on ne peut pas reconnaître nettement les limites. Pour distinguer ces noyaux après l'action de l'acide osmique, il faut les colorer avec le picrocarminate d'ammoniaque, la purpurine ou l'hématoxyline.

A mesure que le corpuscule se développe, les noyaux qui étaient disséminés dans son intérieur sont refoulés vers sa périphérie, et chez l'adulte on n'en trouve d'habitude plus aucun dans le milieu de l'organe, qui probablement n'est occupé que par les fibres nerveuses et les expansions protoplasmiques des cellules marginales.

1. *Thin*, Ueber den Bau der Tastkörperchen. (*Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Vienne*, t. LXVII, 1873.)

2. *Langerhans*, Ueber Tastkörperchen und Rete Malpighii. (*Arch. f. micr. Anat.*, IX, 1873.

Il convient d'ajouter que, dans le corpuscule, les fibres nerveuses ne forment pas une série d'étages réguliers, mais qu'elles sont réunies par petits groupes, constituant autant de glomérules ou plutôt de lobules distincts. Ces lobules nerveux, dont on appréciera mieux la constitution au moyen de la méthode de l'or, montrent chacun des stries parallèles correspondant aux fibres qui les composent. Dans la plupart d'entre eux, ces stries sont régulièrement transversales, mais dans d'autres elles sont plus ou moins obliques, et même dans certains corpuscules on peut en trouver qui sont à peu près verticales.

Pour bien apprécier la disposition lobulée des corpuscules du tact, il faut traiter un fragment de peau par le jus de citron pendant une heure, puis le plonger dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 pendant vingt-quatre heures et y faire ensuite des coupes verticales que l'on colore par le rouge d'aniline. En revanche, les coupes horizontales, c'est-à-dire parallèles à la surface de la peau, faites par le même procédé, ne montrent, en dedans des noyaux marginaux, qu'une substance granuleuse correspondant aux expansions protoplasmiques des cellules et quelques filaments nerveux plus ou moins tortueux.

Pas plus dans les coupes longitudinales que dans les transversales, on ne voit autour des corpuscules une capsule distincte. On y aperçoit seulement quelques cellules connectives aplaties et des noyaux appartenant à la gaine des petits nerfs qui sont appliqués à leur surface.

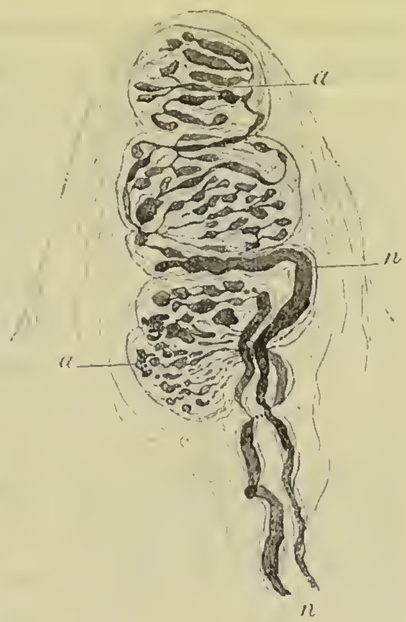


Fig. 339. — Corpuscule du tact de la peau de la face palmaire de l'indicateur de l'homme adulte, traité par le chlorure d'or. Coupe longitudinale. — *nn*, tubes nerveux afférents; *aa*, bouquets glomérulés.

On obtient de bonnes préparations des corpuscules du tact par la méthode de l'or, soit en employant, à l'exemple de Fischer[1], le procédé de Loewit, soit en ayant recours à l'un des deux procédés décrits plus haut (voy. p. 620 et 630). Après l'action de l'or, les fragments de peau seront durcis par l'alcool ou bien par la gomme et l'alcool, afin que l'on puisse y faire des coupes fines longitudinales et transversales. Dans les longitudinales, on reconnaît aisément les fibres nerveuses dans l'intérieur des corpuscules; on les voit se diviser et se subdiviser pour former des arborisations plus ou moins distinctes, qui correspondent à chacun des lobules précédemment décrits.

Dans les coupes parallèles à la surface de la peau, ayant atteint transversalement les corpuscules, les arborisations terminales complexes peuvent être mieux suivies, parce que leur direction générale est transversale. Leurs

1. *Fischer*, Ueber den Bau der Meissner'schen Tastkörperchen, etc. (*Arch. f. micr. Anat.*, t. XI, 1875.)

branches, dont le trajet est tortueux, sont renflées en certains points, rétrécies dans d'autres; elles se divisent, s'anastomosent entre elles et se terminent finalement par des boutons de forme irrégulière, généralement aplatis.

Dans ces coupes, on peut distinguer nettement les noyaux marginaux si on les a colorés au moyen du picrocarminate, de la purpurine, de l'hématoxyline, etc.

On a vu plus haut que, chez l'enfant d'un an, les corpuscules du tact contiennent dans leur intérieur des cellules, qui plus tard sont refoulées à la périphérie. D'où viennent ces cellules? Comment se mélangent-elles aux fibres nerveuses? Ce sont là des questions auxquelles on ne peut répondre que par l'étude du développement.

Pour faire cette étude, il n'est pas nécessaire de remonter au delà de la naissance. Chez l'enfant nouveau-né, dans les coupes verticales de la pulpe des doigts, faites après l'action de l'acide osmique et colorées par le picrocarminate, on peut apercevoir, au sommet de la plupart des papilles, immédiatement au-dessous des cellules épithéliales de la première rangée, quelques stries transversales, et, un peu plus profondément, un îlot de cellules rondes.

Dans des coupes verticales de la peau convenablement dorées (procédé du chlorure d'or bouilli avec l'acide formique, voy. p. 650), il est facile de se convaincre que les stries dessinées par l'acide osmique correspondent à un bouquet nerveux terminal. On y voit en effet les nerfs colorés en violet monter directement jusqu'au sommet des papilles et s'y diviser en un petit nombre de branches qui se terminent par des boutons. Ces branches sont disposées horizontalement, comme si elles avaient été pressées de bas en haut par le nodule cellulaire contre la base des cellules épithéliales.



Fig. 340. — Corpuscule du tact d'un enfant de 50 jours, traité par le chlorure d'or. — *n*, nerf afférent; *b*, bouquet nerveux terminal, entre les branches duquel s'insinuent les cellules, *a*, du nodule sous-jacent.

Chez les enfants de cinquante jours, on constate, en employant les mêmes méthodes, que le bouquet terminal a pris un grand développement; ses branches sont devenues plus nombreuses et plus grosses, et entre elles se sont insinuées des cellules du nodule sous-jacent (fig. 340).

Au sixième mois, le lobe supérieur des corpuscules composés a sa forme définitive; il est bien limité, et dans son intérieur on aperçoit un certain nombre de bouquets terminaux séparés les uns des autres par des cellules qui sont légèrement aplaties transversalement. Le second lobe est en voie de formation. En effet, à la base du premier lobe, on aperçoit un nouveau bouquet nerveux, au-dessous duquel se trouve un groupe de cellules arrondies qui paraissent destinées à le pénétrer.

Ces observations, que j'ai déjà publiées[1], établissent que les cellules qui

1. Nouvelles recherches sur les corpuscules du tact. (*Comptes rendus*. 27 décembre 1880.)

font partie de corpuscules du tact ne sont ni des cellules épithéliales, ni des cellules nerveuses; ce sont des cellules du mésoderme différenciées en vue d'une adaptation spéciale. De même que les cellules tactiles des palmipèdes et des mammifères, elles diffèrent des cellules connectives ordinaires par leur affinité spéciale pour le chlorure d'or. Il arrive souvent en effet qu'elles sont colorées en violet par ce réactif, tandis que les cellules connectives avoisinantes ne présentent aucune coloration[1].

Corpuscules de Pacini. — Chez l'homme, les corpuscules de Pacini sont disposés en grand nombre dans le tissu cellulo-adipeux de la face palmaire des doigts et des orteils, au voisinage de leurs nerfs collatéraux, et c'est dans ces régions qu'il faut les chercher.

On s'en procure encore facilement dans le mésentère et le mésocôlon du chat. Ils s'y distinguent à l'œil nu comme autant de petits corps ovoïdes transparents, soit dans le tissu adipeux qui accompagne les rayons vasculaires du mésentère, soit au milieu du tissu conjonctif généralement dépourvu de graisse du mésocôlon. Il suffit de détacher les segments de ces membranes qui en contiennent, de les étaler sur une lame de verre et de les recouvrir d'une lamelle sans addition d'aucun réactif pour obtenir une préparation dans laquelle on reconnaît leurs principaux détails de structure.

Chacun de ces corpuscules, à l'un des pôles duquel arrive une fibre nerveuse à myéline munie d'une gaine lamelleuse épaisse, se montre formé d'une série de capsules emboîtées, entourant une cavité allongée, *massue centrale*, que leur transparence permet de distinguer parfaitement et qui

1. Les corpuscules du tact ont été découverts par Wagner et Meissner (*Ueber das Vorhandensein bisher unbekannter eigenthümlicher Tastkörperchen* (Corpuscula tactus), etc. Göttinger Nachrichten, 1852, n° 2). Meissner en a fait plus tard le sujet d'une monographie plus étendue (*Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Haut*. Leipzig, 1853), et c'est pour cela que souvent on les désigne aussi sous le nom de corpuscules de Meissner. Bien que cet histologiste n'eût alors à sa disposition ni l'acide osmique ni le chlorure d'or et qu'il se contentât de traiter les préparations par l'acide acétique ou les alcalis caustiques, la description qu'il en a donnée s'éloigne peut-être moins de la vérité que celles de la plupart des histologistes qui lui ont succédé : une capsule fibreuse, un contenu granuleux dans lequel arrive la fibre nerveuse et où, après avoir perdu sa gaine médullaire, elle se divise pour se terminer par des fibres pâles.

Il me paraît tout à fait inutile de rendre compte des travaux et des discussions qui ont suivi la découverte de Wagner et de Meissner. Il faut arriver en effet jusqu'à Langerhans (*loc. cit.*, voy. p. 692) pour voir la question faire quelque progrès, grâce surtout à ce que dans ses recherches cet auteur a employé l'acide osmique. Plus tard, Fischer (*loc. cit.*, voy. p. 707), au moyen de la méthode de l'or, a confirmé et étendu les résultats obtenus par Langerhans.

Dans ces derniers temps, Merkel (*Ueber die Endigungen der sensiblen Nerven in der Haut der Wirbelthiere*, Rostock, 1880, p. 159) a soutenu que les cellules interstitielles des corpuscules du tact sont des cellules ganglionnaires dans lesquelles viennent se terminer les nerfs; cette conclusion a été contestée par Krause (*Die Nervenendigung innerhalb der terminalen Körperchen*, Arch. f. micr. Anat., t. XIX, p. 98 et suivantes). Dans ce travail, Krause revient sur l'opinion qu'il avait adoptée anciennement, c'est-à-dire celle de Meissner, pour reconnaître avec Langerhans que les cellules interstitielles sont d'origine connective. Cette manière de voir se trouve confirmée par les recherches que j'ai faites sur le développement des corpuscules du tact, recherches qui, je l'espère, amèneront entre les histologistes une entente définitive sur la nature, la forme et les rapports des éléments qui composent ces organes.

contient une matière granuleuse, vaguement striée en long. Dans l'axe de cette massue, la fibre nerveuse afférente, après s'être dépouillée de sa gaine médullaire, se poursuit et se termine par un bouton, ou bien se divise en un certain nombre de branches munies d'autant de boutons terminaux.

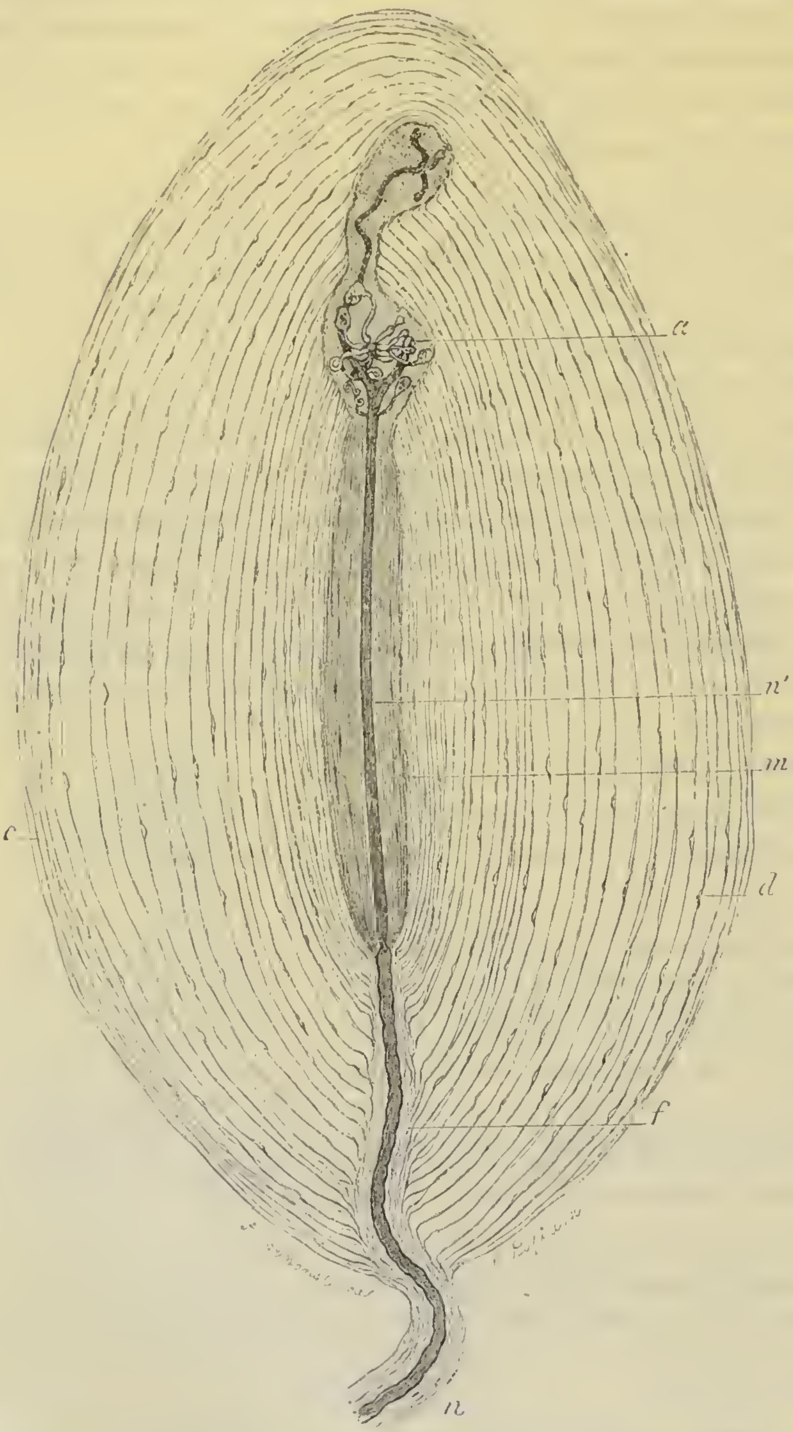


Fig. 341. — Corpuscule de Pacini du mésentère du chat adulte, observé frais sans aucun réactif. — *c*, capsules; *d*, lignes endothéliales qui les séparent; *n*, nerf afférent; *f*, funicule; *m*, massue centrale; *n'*, fibre terminale; *a*, point où l'une des branches de la fibre terminale se divise en un grand nombre de rameaux portant des boutons terminaux.

Lorsque l'on met exactement au point pour le bord du corpuscule, les capsules paraissent séparées les unes des autres par des lignes plus réfringentes, dans l'épaisseur desquelles se voient des noyaux qui tous font saillie en dedans, c'est-à-dire vers l'axe du corpuscule. Ces lignes correspondent à des lames endothéliales; de distance en distance, elles sont réunies par des ponts transversaux. Elles marquent la limite des capsules, dont on peut dès lors apprécier l'épaisseur. On reconnaît ainsi que les capsules sont plus minces au centre et dans la partie périphérique du corpuscule que dans la partie moyenne.

Dans les mêmes préparations, on pourra apprécier les rapports de la gaine lamelleuse du nerf afférent avec les capsules. Au point où le nerf atteint le corpuscule, les lames les plus externes de sa gaine s'écartent les unes des

autres pour concourir à la formation des capsules périphériques; puis les lames sous-jacentes, après avoir accompagné le nerf sur un certain trajet, l'abandonnent les unes après les autres et forment de même par leur expansion les capsules moyennes et internes; enfin la dernière de ces lames ne quitte le nerf qu'au niveau de la massue centrale pour donner la capsule qui la limite. La partie de la gaine lamelleuse du nerf comprise dans l'enveloppe capsulaire du corpuscule constitue ce qu'on désigne sous le nom de *funicule*.

Quelquefois la fibre nerveuse afférente ne se termine pas dans le corpuscule, elle ne fait que le traverser; néanmoins elle perd successivement ses enveloppes, et sa gaine de myéline disparaît même complètement dans la massue centrale. Mais au pôle opposé toutes ses gaines se reconstituent et elle poursuit son trajet pour se terminer dans un second corpuscule, ou bien elle le traverse comme le premier pour trouver dans un troisième corpuscule sa véritable terminaison.

Les lames endothéliales qui séparent les capsules des corpuscules de Pacini sont semblables à celles de la gaine lamelleuse des nerfs (voy. p. 580), et l'imprégnation par le nitrate d'argent s'y produit avec la plus grande facilité, ainsi que Hoyer[1] l'a reconnu il y a longtemps. Pour l'obtenir, il suffit de plonger un corpuscule de Pacini, isolé ou compris dans un lambeau du mésentère, dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 300.

La structure des capsules des corpuscules de Pacini devra être étudiée sur des coupes de ces corpuscules durcis par le procédé suivant : dans un doigt de l'homme, tout à fait frais, provenant d'une amputation par exemple, on pratique avec une seringue de Pravaz, sur le trajet des nerfs collatéraux, une injection sous-cutanée d'acide osmique à 1 pour 100. Puis, après avoir incisé la peau suivant ce trajet, on saisit un des lambeaux de l'incision et on le dissèque. Au milieu du panicule adipeux coloré en noir, on distingue les corpuscules de Pacini colorés en jaune clair et translucides. Après les avoir recueillis, on les débarrasse des débris de tissu conjonctif et adipeux qui y adhèrent et on les plonge dans une solution de picrocarminate d'ammoniaque à 1 pour 100 où on les laisse pendant 24 heures. Puis on les fait dégorger dans l'eau et l'on complète leur durcissement par l'alcool.

En comparant l'aspect que les capsules offrent dans les coupes transversales et dans les longitudinales, on se convaincra facilement qu'elles sont composées de fibres connectives séparées par une substance amorphe. Dans chaque capsule, ces fibres forment en dedans une couche longitudinale et en dehors une couche annulaire, et ces deux couches sont traversées par quelques fibres transversales ou plutôt à direction rayonnante.

Dans les capsules internes, les fibres longitudinales dominent; il en est de même dans les superficielles, où elles acquièrent un diamètre de plus en plus considérable et qui finit par égaler celui des faisceaux du tissu conjonctif ordinaire. Il convient d'ajouter que, dans la région moyenne du corpuscule,

1. *Hoyer*, Ein Beitrag zur Histologie bindegewebiger Gebilde. (*Arch. de Reichert et du Bois-Reymond*, 1865.)

les capsules ne contiennent qu'un nombre extrêmement restreint de fibres annulaires et une grande quantité de sérum.

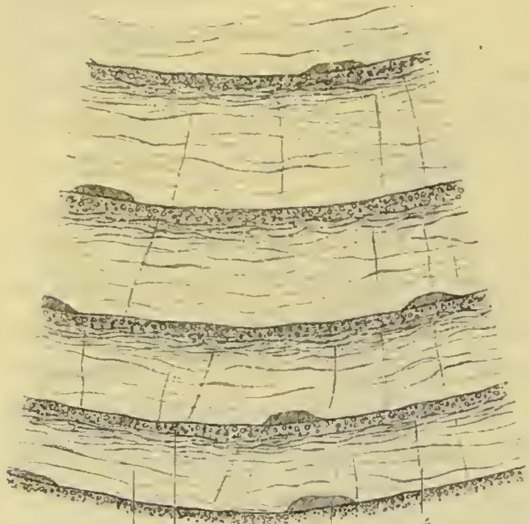


Fig. 342. — Coupe transversale de quatre capsules de la partie moyenne de l'enveloppe d'un corpuscule de Pacini de l'homme, faite après injection interstitielle d'acide osmique. Coloration du corpuscule entier par le picrocarminate et durcissement dans l'alcool. — *a*, fibres circulaires; *l*, fibres longitudinales; *t*, fibres transversales ou rayonnantes; *c*, noyaux des lames endothéliales.

Dans les coupes transversales, la capsule qui limite la massue centrale se montre tapissée en dedans d'une couche endothéliale simple; quant à la massue elle-même, elle paraît formée d'une substance granuleuse dans laquelle on distingue des zones concentriques; on y observe quelques noyaux colorés en rouge par le carmin et la section d'une ou de plusieurs fibres nerveuses [1].

Par l'examen de coupes longitudinales comprenant la massue centrale, on peut apprécier très exactement la disposition qu'affecte la fibre nerveuse dans son intérieur. Bien qu'elle ait perdu sa gaine médullaire, elle montre néanmoins un double contour qui paraît se continuer avec la membrane de Schwann. Il est possible que cette membrane se poursuive à sa surface; mais il est bien plus probable qu'elle disparaît et que le protoplasma, celui qui la double et celui qui enveloppe le cylindre-axe, continue seul d'accompagner la fibre nerveuse.

1. On discute encore aujourd'hui pour savoir quelle est la nature de la substance qui forme la massue centrale. Axel Key et Retzius, ayant cherché à déterminer ce qui, dans le corpuscule, représentait les différentes gaines du nerf, ont pensé que la massue centrale correspondait au tissu conjonctif intra-fasciculaire (voy. p. 585) et qu'elle était composée par conséquent de fibres connectives à direction longitudinale.

Kölliker (*Traité d'histologie*, 2e édition française, p. 145) l'avait considérée comme formée de couches emboîtées. Plus récemment, Schäfer (*The structure of the Pacinian corpuscles*... Quarterly Journal of micr. science, t. XV, 1875, p. 157) remarqua dans des coupes transversales des zones concentriques. Cette observation vient à l'appui de la manière de voir de Kölliker. Dans ces dernier temps, Merkel (*loc. cit.*, voy. p. 709) a soutenu que la massue centrale est entièrement constituée par des cellules, munies d'ailes latérales comme celles que Waldeyer a admises pour les cellules du tissu conjonctif ordinaire. Or, les ailes cellulaires de Waldeyer ne sont autre chose que les crêtes d'empreinte que j'avais décrites dans les cellules des tendons (voy. p. 287), et, comme ces crêtes ne peuvent se produire que sur des cellules comprises entre des parties résistantes, on ne voit pas pourquoi les cellules de la massue centrale en posséderaient si elles étaient les seuls éléments constituants de cette massue.

Krause (*Die Nervenendigung innerhalb der terminalen Körperchen*, Arch. f. micr. Anat., t. XIX, p. 66), qui a affirmé également que la massue centrale était entièrement composée de cellules, a considéré ces cellules comme une espèce particulière de cellules connectives et leur a donné le nom de cellules de massue (*Kolbenzellen*). Il y a évidemment des cellules dans la massue des corpuscules de Pacini, mais leur nombre n'est pas assez considérable pour la former tout entière. Entre elles, il existe des fibres à direction longitudinale. Aussi, lorsqu'on examine la massue centrale à la lumière polarisée, elle paraît brillante sur les vues longitudinales, tandis que dans les coupes transversales elle reste obscure.

Après un certain trajet dans la massue centrale, cette fibre se divise, se subdivise et donne même des ramifications latérales. Les branches qui naissent ainsi sont plus ou moins nombreuses; elles se contournent de diverses façons et se terminent par des boutons de formes et de dimensions variables.

La disposition complexe de la fibre terminale des corpuscules de Pacini de l'homme adulte peut être observée plus facilement encore dans des corpuscules tout à fait frais sans addition d'aucun réactif. Pour faire cette observation, il faut, après avoir isolé un corpuscule, le placer sur une lame de verre et le recouvrir d'une lamelle que l'on soutient avec trois petites cales de tissu cellulo-adipeux.

Les fibres nerveuses contenues dans la massue centrale sont nettement fibrillaires. Les fibrilles qui les constituent peuvent être suivies jusque dans les boutons terminaux, où elles paraissent séparées par une substance granuleuse, probablement de la même nature que celle qui est interposée aux fibrilles cylindraxiles en général.

Lorsqu'on traite les corpuscules de Pacini par la méthode de l'or en suivant un des procédés indiqués plus haut, ils se colorent en violet plus ou moins foncé. Souvent même la massue centrale et les capsules les plus internes sont colorées à un tel point qu'il est impossible de distinguer la fibre nerveuse terminale. Mais si, tout en poursuivant l'examen à un faible grossissement, on laisse tomber sur les corpuscules quelques gouttes d'une solution de cyanure de potassium à 1 pour 100, on voit la coloration disparaître progressivement à partir de la surface; la massue centrale se décolore à son tour, et la fibre nerveuse se montre alors dans son intérieur. Pour l'empêcher de subir également la décoloration, il suffit d'ajouter de l'acide formique[1].

1. La plupart des auteurs allemands attribuent à Vater (*Dissertatio de consensu partium corporis humani*, Vitembergae, 1741) la découverte des corpuscules de Pacini. Cet anatomiste, en effet, les avait observés à l'œil nu en disséquant les nerfs et les avait considérés comme des papilles nerveuses. Mais personne n'en soupçonnait plus même l'existence lorsque Pacini les découvrit de nouveau, les étudia au microscope et établit les points principaux de leur structure.

Plus tard Henle et Kölliker (*Ueber die Pacini'schen Körperchen an den Nerven der Menschen und der Saügethiere*, Zurich, 1844) confirmèrent les données de Pacini et les étendirent encore. Ils virent la fibre nerveuse se diviser dans la massue centrale et constatèrent l'existence de corpuscules bipolaires, c'est-à-dire placés simplement sur le trajet d'une fibre nerveuse qui va se terminer dans un autre corpuscule.

Ces auteurs et la plupart de ceux qui les ont suivis comprenaient les capsules tout autrement qu'on ne le fait aujourd'hui. Le tissu conjonctif infiltré de sérosité qui se trouve entre les lames endothéliales était pour eux un liquide intercapsulaire. Mais les recherches de Hoyer faites au moyen du nitrate d'argent (*loc. cit.*, voy. p. 711), celles de Ciaccio (*Dell'anatomia sottile dei corpuscoli Pacinici dell'uomo ed altri mammiferi e degli uccelli*, Torino, 1868) qui l'avaient conduit à admettre que le liquide intercapsulaire était compris dans des mailles de tissu conjonctif, mes recherches sur la gaine lamelleuse des nerfs, bientôt suivies de celles d'Axel Key et Retzius sur le même objet, conduisirent ces derniers auteurs (*Studien in der Anatomie des Nervensystems*, 1876) à mieux apprécier la constitution des enveloppes des corpuscules de Pacini. Leur description ne diffère pas essentiellement de celle qui est donnée dans le texte courant de cet ouvrage; cependant ils n'ont vu dans les capsules que les fibres connectives annulaires, tandis qu'en réalité il en existe aussi de longitudinales et de rayonnées.

Les corpuscules de Pacini de l'homme contiennent des vaisseaux sanguins qui donnent un réseau capillaire dans les capsules superficielles et des anses plus ou moins longues dans les capsules moyennes. Les capillaires sont compris dans l'épaisseur même des capsules, ainsi qu'on peut le reconnaître dans les coupes faites après l'action de l'acide osmique : ils possèdent, outre leur tunique endothéliale, une enveloppe assez épaisse de tissu conjonctif presque homogène, dont la surface externe est recouverte de cellules plates.

Pour obtenir des vues d'ensemble du système vasculaire des corpuscules de Pacini, on devra examiner des coupes faites sur un doigt convenablement injecté ou bien des corpuscules de Pacini extraits de ce doigt, après qu'il aura séjourné dans l'alcool. Les coupes ou les corpuscules isolés seront conservés dans la résine dammare ou dans le baume du Canada après avoir été déshydratés par l'alcool absolu et éclaircis par l'essence de girofle[1].

1. Les corpuscules de Pacini n'existent pas seulement chez les mammifères et chez l'homme. On en trouve aussi chez les oiseaux, surtout dans le bec et dans la langue ; chez les palmipèdes ils y sont associés aux corpuscules du tact. Les corpuscules de Pacini des oiseaux, que l'on désigne fréquemment sous le nom de corpuscules de Herbst, parce que c'est à cet auteur (*Göttinger Nachrichten*, 1848) qu'on en doit la découverte, sont plus petits que les corpuscules de Pacini proprement dits, dont ils diffèrent encore par la constitution de leurs capsules. Leur massue centrale, dans laquelle la fibre nerveuse, généralement aplatie, se termine par un simple bouton, contient des cellules dont la disposition varie suivant les espèces.

Chez l'homme et chez les mammifères, il y a des corpuscules de Pacini, non seulement dans le tissu cellulaire sous-cutané, mais encore dans des régions profondes, autour des articulations et le long des ligaments interosseux. Enfin, dans ces derniers temps, Golgi, (*Sui nervi dei tendini dell'uomo e di altri vertebrati*, Acad. des sciences de Turin, t. XXXII, 1880) en a découvert chez l'homme de beaucoup plus petits que les autres, qui sont situés à l'union des muscles et des tendons et qui servent d'intermédiaires entre les corpuscules de Pacini ordinaires et les corpuscules décrits par Krause (*Ueber Nervenendigungen*. Zeitsch. f. rat. Med., 3e série, t. V, 1859) dans la conjonctive.

Les corpuscules de Krause sont, en effet, des corpuscules de Pacini qui, réduits à un nombre très restreint de capsules, contiennent une massue centrale relativement volumineuse dans laquelle viennent se terminer une ou plusieurs fibres nerveuses à myéline. Chez la plupart des mammifères, chez le veau en particulier, cette analogie est frappante : chez l'homme, ces corpuscules sont sphériques et reçoivent plusieurs fibres nerveuses qui s'enroulent ou se replient avant de se terminer. La massue centrale, ainsi qu'il résulte des recherches de Longworth (*Ueber die Endkolben der Conjunctiva*, Arch. f. micr. Anat., t. XI, 1875), y paraît composée entièrement de cellules polyédriques. On trouvera des renseignements complets sur ces corpuscules et sur les travaux dont ils ont été l'objet dans le dernier mémoire de Krause (*Die Nervenendigung innerhalb der terminalen Körperchen*, Arch. micr. Anat., t. XIX).

Je reviens maintenant aux recherches de Golgi. Outre les petits corpuscules de Pacini dont il a été question, cet auteur a découvert entre les muscles et les tendons, chez l'homme et chez quelques animaux, le lapin par exemple, de petits appareils nerveux terminaux auxquels il a donné le nom d'organes musculo-tendineux. Ces appareils se trouvent à la surface du tendon sur laquelle le muscle vient s'insérer ou sur de petits faisceaux tendineux qui, partant de cette surface, s'avancent un peu dans l'intérieur du muscle pour servir d'insertion à des fibres musculaires. Chacun d'eux est constitué par un grand nombre d'arborisations terminales élégantes qui toutes proviennent des divisions et subdivisions d'un seul tube nerveux à myéline, et dont les branches épaissies par places sont fréquemment anastomosées. On les met facilement en évidence en traitant par le mélange de chlorure d'or et d'acide formique (voy. p. 650) le tendon d'insertion antérieur et supérieur des muscles jumeaux du lapin, après qu'on l'a enlevé avec une couche aussi mince que possible des fibres musculaires qui y adhèrent. Lorsque la réduction de l'or est opérée, on racle le tendon avec un scalpel afin de le débarrasser des fibres musculaires qui masquent les organes musculo-tendineux.

MUQUEUSE OLFACTIVE.

Chez l'homme et chez les mammifères, la muqueuse olfactive, caractérisée par une coloration jaunâtre plus ou moins accusée, sur laquelle Todd et Bowman ont insisté jadis, occupe la région supérieure des fosses nasales, le cornet supérieur, le méat supérieur, une partie du cornet moyen et les portions correspondantes de la cloison.

Chez les batraciens, les fosses nasales ont une disposition beaucoup plus simple. La seule saillie qu'elles présentent est une petite éminence en forme de mamelon, située sur leur plancher, l'*éminence olfactive*.

Chez la plupart des poissons (brochet, carpe, etc.), les fosses nasales sont représentées par deux cavités situées au-dessous de la peau, communiquant avec l'extérieur par une ou deux ouvertures et présentant à leur face interne une éminence réticulée de forme et d'étendue variables suivant les espèces, et dans laquelle vient se terminer le nerf olfactif.

Pour étudier les éléments de l'épithélium olfactif, il faut d'abord recourir aux procédés chimiques de dissociation. Un fragment de la muqueuse tout à fait frais est placé dans une solution d'acide chromique à 1 ou 2 pour 10 000, ou dans du sérum faiblement iodé (voy. p. 67) ou dans l'alcool au tiers (voy. p. 68). Ce dernier réactif donne les meilleurs résultats; au bout de quelques heures son action est suffisante, et, en raclant la surface de la muqueuse avec un scalpel, on détache sans difficulté des lambeaux de l'épithélium, dont les éléments se séparent plus ou moins complètement quand on les agite dans une goutte d'eau sur la lame de verre porte-objet. Après les avoir colorés au moyen du picrocarminate, on les recouvre d'une lamelle que l'on borde à la paraffine, et l'on pratique l'examen immédiatement.

Après l'action de l'alcool au tiers, comme, du reste, après celle du sérum iodé ou de l'acide chromique, les éléments les plus délicats et les plus intéressants, entraînés par les courants qui se produisent dans la préparation, se déchirent ou s'enroulent, de telle sorte qu'il est quelquefois difficile d'en apprécier exactement la forme. Pour obvier à cet inconvénient, il faut modifier un peu le procédé; après avoir laissé les fragments de la muqueuse

La découverte des organes musculo-tendineux, dont l'importance n'échappera à personne, appartient bien réellement à Golgi. Cependant elle a été précédée de recherches intéressantes de Rollett (*Ueber einen Nervenplexus und Nervenendigungen in einer Sehne*, Comptes rendus de l'Académie de Vienne, janvier 1876) sur les terminaisons nerveuses qui se trouvent dans le tendon du muscle sterno-radial de la grenouille. Un peu au-dessus de son insertion radiale, on voit arriver dans ce tendon un nerf à myéline qui pénètre dans son intérieur, se ramifie et se termine en donnant naissance à un bouquet de fibres pâles. Te Gempt (*Ein Beitrag zur Lehre von den Nervenendigungen im Bindegewebe*, Kiel, 1877) a étendu ses recherches à d'autres tendons de la grenouille dans lesquels la méthode de l'or lui a permis de suivre plus loin les fibres nerveuses terminales.

Il existe en outre dans les tendons de la grenouille, ainsi qu'il résulte des recherches de Sachs (*Die Nerven der Sehnen*, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1875) et de Tschiriew (*Sur les terminaisons nerveuses dans les muscles striés*, Arch. de Physiologie, t. VI, p. 89), des fibres nerveuses sans myéline qui ne forment pas des appareils spéciaux comme ceux dont il vient d'être question, mais se terminent par des extrémités libres éparses à la surface des tendons ou entre les faisceaux qui les composent.

séjourner pendant une heure dans l'alcool au tiers, on les plonge dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, où on les laisse pendant cinq minutes, puis on les porte dans l'eau. Les éléments que l'on obtiendra par le raclage de la muqueuse et que l'on dissociera sur la lame de verre seront ainsi devenus rigides et ne subiront plus les mêmes déformations. En outre, ils ne se ratatineront plus autant par l'action de la glycérine, ce qui permettra d'en faire des préparations persistantes, après qu'on les aura colorés par le picrocarminate.



Fig. 543. — Une cellule épithéliale et une cellule sensorielle de l'épithélium olfactif de la salamandre maculée, isolées après l'action successive de l'alcool au tiers et de l'acide osmique, colorées par le picrocarminate et conservées dans la glycérine. — *e*, cellule épithéliale; *s*, cellule sensorielle; *p*, bâtonnet de la cellule sensorielle; *c*, cil de cette cellule.

Dans ces préparations, les éléments cellulaires sont complètement isolés ou bien ils sont réunis en petits groupes dans lesquels ils ont conservé leurs rapports réciproques. Chez les mammifères, le lapin, le chien, on remarquera tout d'abord, parmi ces derniers, des tubes qui s'amincissent progressivement vers une de leurs extrémités et qui sont composés de cellules intimement soudées les unes aux autres. Ce sont les canaux excréteurs intra-épithéliaux des glandes de la muqueuse olfactive. Les autres éléments de l'épithélium olfactif sont de trois espèces : des cellules cylindriques, *cellules épithéliales proprement dites*, des cellules minces, fusiformes, cellules en bâtonnets, *cellules olfactives*, et enfin des cellules irrégulièrement étoilées, *cellules basales*.

Les cellules épithéliales proprement dites contiennent un noyau ovalaire longitudinal, situé dans toutes environ à la même hauteur. Leur corps, large et régulièrement cylindrique au-dessus de ce noyau, est rendu irrégulier dans sa partie inférieure par des dépressions profondes en forme de cupules; il se termine par une extrémité étalée ou divisée. Ces cellules n'ont pas de membrane. Le protoplasma qui les forme est granuleux ; au-dessous du noyau, il contient souvent des gouttelettes graisseuses; au-dessus de lui, les granulations protoplasmiques forment des séries longitudinales plus ou moins régulières, entre lesquelles se trouve une substance claire, d'apparence muqueuse, plus abondante chez les batraciens et en particulier chez la grenouille, où elle s'échappe par l'extrémité libre de la cellule et où elle semble même exercer une certaine pression sur le noyau dont le pôle supérieur présente un méplat ou une légère concavité.

Ce sont là des cellules à mucus, qui diffèrent des cellules caliciformes proprement dites en ce que leurs travées protoplasmiques, au lieu de s'entre-

croiser dans tous les sens, sont toutes parallèles à leur axe. Elles ne présentent à leur surface ni plateau strié comme le veut von Brunn[1], ni cils vibratiles comme le soutient Krause[2]. Le plateau régulier ou irrégulier que l'on y remarque après l'action de liquides coagulants, l'acide osmique ou le liquide de Müller, correspond à un petit bouchon de mucus fixé par ces réactifs.

Les cellules olfactives renferment un noyau généralement plus arrondi que celui des cellules épithéliales ; il est entouré d'une couche de protoplasma extrêmement mince qui s'accumule à ses deux pôles et se poursuit pour former un prolongement central et un prolongement périphérique dont la longueur relative est variable ; à côté de cellules qui ont un prolongement central assez long et un prolongement périphérique court, on en trouvera d'autres où le prolongement périphérique est court, tandis que le central est plus long ; on rencontrera aussi tous les intermédiaires.

Le prolongement central est extrêmement grêle. Il se dégage habituellement du corps cellulaire au niveau du pôle inférieur du noyau ; quelquefois cependant son point d'implantation est un peu latéral. Il est formé d'une substance réfringente homogène et présente souvent des varicosités qui se sont produites sous l'influence des réactifs. Ces caractères lui donnent, ainsi que M. Schultze l'a fait remarquer, une grande analogie avec les fibrilles nerveuses élémentaires.

Le prolongement périphérique part toujours exactement du pôle supérieur du noyau, où le protoplasma se trouve accumulé en quantité plus considérable qu'à son pôle inférieur. Il est plus large que le prolongement central et régulièrement cylindrique. Ce n'est que tout à fait exceptionnellement qu'il montre, sous l'influence des réactifs, des irrégularités qui ne sont du reste jamais comparables aux varicosités du prolongement central. Il possède à son extrémité un petit bâtonnet formé d'une substance claire, homogène et réfringente qui, chez les batraciens anoures ou urodèles (grenouilles, tritons, salamandres), sert de support à un ou plusieurs cils.

Ces cils sont extrêmement délicats, et après l'application des réactifs dissociateurs ils sont généralement détruits ou détachés. Cependant, après l'action successive de l'alcool au tiers et de l'acide osmique, on les retrouve encore sur un grand nombre de cellules olfactives. Ils sont longs et tellement grêles que pour les distinguer, il faut employer un objectif fort et un éclairage favorable. Quelques-uns cependant sont beaucoup plus volumineux que les autres et s'aperçoivent d'emblée.

On peut les examiner à l'état vivant et être témoin de leurs mouvements. Pour cela, il faut, après avoir détaché la muqueuse qui recouvre l'éminence olfactive de la grenouille, la placer sur une lame de verre dans une goutte d'humeur aqueuse et la replier de façon à ce qu'elle montre sa surface libre sur le bord du pli. On peut alors la recouvrir d'une lamelle et l'examiner à un fort grossissement.

1. *Von Brunn*. Weitere Untersuchungen neber das Riechepithel und sein Verhalten zum Nervus olfactorius. (*Arch. f. micr. Anat.*, t. XIX, p. 141.)

2. *Krause*. Handbuch der Anatomie des Menschen. 1876. p. 176

On distingue d'abord les gros cils, et bientôt on aperçoit également les plus grêles. Les mouvements qu'ils présentent les uns et les autres sont absolument différents de ceux des cils vibratiles ordinaires. Tandis que ces derniers se meuvent tous rapidement dans la même direction, de manière à communiquer aux liquides ou aux particules solides qui se trouvent à la surface de la muqueuse un mouvement qui se poursuit toujours dans le même sens, les cils olfactifs se meuvent très lentement, tantôt dans un sens, tantôt dans un autre. Il n'est même pas rare de voir deux gros cils facilement reconnaissables et situés dans le voisinage l'un de l'autre s'infléchir et se relever alternativement en sens inverse comme deux personnes qui se saluent. Le rôle des cils olfactifs paraît donc être, non pas d'imprimer un mouvement dans une direction déterminée au fluide qui recouvre la muqueuse, mais simplement de le brasser pour amener les particules odorantes au contact des éléments qu'elles doivent impressionner.

Les cellules basales, dont le noyau est semblable à celui des cellules épithéliales, ont des formes beaucoup plus accusées chez les mammifères que chez les batraciens. Isolées après l'action de l'alcool au tiers, elles se montrent comme des cellules massives, irrégulièrement étoilées, dont les prolongements paraissent comme cassés à des hauteurs différentes.

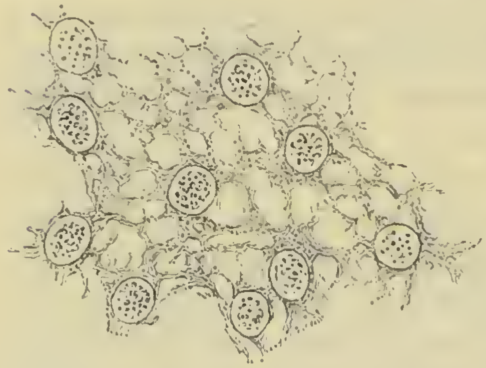


Fig. 514. — Groupe de cellules basales de l'épithélium olfactif du chien, isolé après l'action du liquide de Müller, coloré au picrocarminate et conservé dans la glycérine.

Si, après que l'on a laissé séjourner un fragment de la muqueuse olfactive du chien pendant deux ou trois semaines dans le liquide de Müller ou le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, on dissocie l'épithélium qui le recouvre, on obtient des groupes de cellules basales unies par leurs prolongements. Sur ces prolongements, on ne distingue aucune ligne de séparation qui pourrait correspondre à la limite des cellules, ce qui conduit à penser qu'elles sont fondues les unes avec les autres pour constituer un réseau protoplasmique. Ce fait semble montrer que les cellules basales sont des cellules spéciales et qu'elles ne sont point du tout destinées à remplacer les cellules épithéliales ordinaires arrivées au dernier terme de leur évolution, ainsi que l'a soutenu Krause (*loc. cit.*, p. 178), qui du reste n'a reconnu ni leur forme, ni les rapports qu'elles affectent entre elles.

On verra plus loin que, dans la rétine de certains animaux, il existe des cellules analogues, dont la signification ne peut être bien comprise que si on les compare aux cellules basales de l'épithélium olfactif.

Dans toutes les préparations de l'épithélium olfactif faites par dissociation, on peut étudier les rapports des cellules épithéliales et des cellules sensorielles, parce qu'il s'en trouve toujours qui sont restées groupées en nombre plus ou moins considérable. Souvent même, une cellule épithéliale est

entourée de plusieurs cellules olfactives dont les corps cellulaires, situés à des hauteurs variables, sont encore plus ou moins engagés dans les fossettes dont est creusée sa partie inférieure, tandis que leurs prolongements périphériques sont logés dans les cannelures longitudinales de sa partie supérieure.

Jamais, au contraire, ces groupes ne sont restés en relation avec les cellules basales, de sorte que, pour étudier les rapports de ces cellules avec les autres éléments épithéliaux, il est nécessaire d'examiner les préparations faites par le procédé suivant :

Un lambeau de la muqueuse olfactive du chien, ayant séjourné deux ou trois semaines dans le liquide de Müller, est mis à dégorger dans l'eau, puis il est plongé dans l'alcool pour en compléter le durcissement. On en fait des coupes perpendiculaires à la surface et, les plaçant sur une lame de verre dans une ou deux gouttes d'une solution d'hématoxyline ancienne ou nouvelle (voy. p. 91), on remarque au bout d'un instant, en examinant à un faible grossissement, que les noyaux des différentes cellules qui composent le revêtement épithélial ne se colorent pas avec la même intensité. Ceux des cellules épithéliales proprement dites, ceux des cellules des conduits intra-épithéliaux des glandes et ceux des cellules basales sont colorés en violet foncé, alors que ceux des cellules olfactives sont encore incolores ou ne présentent qu'une légère teinte bleue. Pour conserver les éléments ainsi colorés, il faut laver la préparation, la traiter successivement par l'alcool absolu et l'essence de girofle et la monter ensuite dans la résine dammare. Les noyaux des cellules épithéliales forment une ou deux rangées superficielles, les noyaux des cellules basales une rangée profonde, et entre eux se trouvent étagés les nombreux noyaux des cellules olfactives, que l'on distingue à peine. La différence d'intensité dans la coloration des noyaux se produit aussi avec le picrocarminate et avec la purpurine, mais d'une manière moins accusée.

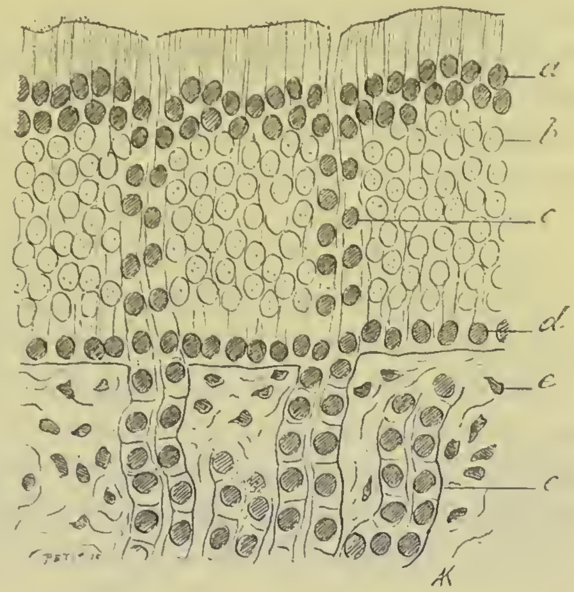


Fig. 545. — Coupe verticale de la muqueuse olfactive du chien, faite après durcissement par le liquide de Müller, colorée par l'hématoxyline ancienne et montée dans la résine dammare, après avoir été déshydratée par l'alcool et éclaircie par l'essence de girofle. — *a*, noyaux des cellules épithéliales ou de soutènement fortement colorés; *b*, noyaux des cellules sensorielles incolores ou à peine teintés; *d*, noyaux des cellules basales, colorés comme ceux des cellules épithéliales; *c*, noyaux des glandes olfactives; *e*, noyaux des cellules connectives de la muqueuse.

Ces réactions montrent qu'il y a, entre les cellules franchement épithéliales et les cellules sensorielles, des différences profondes, et dès lors on

ne saurait les considérer comme représentant les divers stades d'évolution d'une même espèce de cellules[1].

Les mêmes préparations conviennent pour l'étude des glandes de la muqueuse olfactive. Chez les mammifères et chez l'homme, ces glandes sont franchement tubulaires : elles n'ont pas d'autre canal excréteur que leur tube cellulaire intra-épithélial. Elles s'enfoncent d'abord directement dans la muqueuse, puis, arrivées dans ses couches profondes, elles s'incurvent, afin de pouvoir se loger dans l'espace restreint qui leur est réservé. Elles sont tapissées d'une seule couche de cellules, dans l'intérieur desquelles se trouvent des granulations pigmentaires qui concourent pour la plus large part à donner à la muqueuse olfactive sa coloration caractéristique. Chacune de ces glandes se termine par un seul cul-de-sac, au fond duquel sont accumulées des cellules plus petites que les autres, qui se colorent d'une manière plus vive sous l'influence du picrocarminate, de la purpurine ou de l'hématoxyline, et forment là un groupe qui n'est pas sans analogie avec le croissant de Gianuzzi des glandes salivaires à mucus (voy. p. 216).

Chez la grenouille, les glandes de la muqueuse olfactive ont la forme d'utricules simples. Quelques-unes sont entièrement logées dans l'épaisseur de l'épithélium; mais la plupart d'entre elles s'enfoncent plus ou moins profondément dans le chorion de la muqueuse, en déprimant la membrane basale qui devient ainsi leur membrane propre. Les cellules glandulaires y sont disposées sur une seule couche : celle de leurs extrémités qui regarde la lumière de la glande est renflée en forme de sac et remplie de granulations sphériques ayant à peu près toutes le même diamètre ; leur extrémité périphérique s'aplatit et forme une écaille protoplasmique dans laquelle est

1. Eckhardt fut le premier qui constata (*Beiträge zur Anatomie und Physiologie*, Heft, I. 1855, p. 77) que dans l'épithélium olfactif de la grenouille il existe deux espèces de cellules : des cellules épithéliales proprement dites et des cellules fusiformes. Cet auteur pensa que le nerf olfactif, après s'être divisé et subdivisé dans l'intérieur de la muqueuse, donne des filaments extrêmement fins qui se terminent dans les deux espèces de cellules. La même année, Ecker (*Bericht über die Verhandlungen zur Befœrd. der Naturwissenschaft zu Freiburg i. B.*, 1855, n° 12) reconnut l'existence des deux espèces de cellules décrites par Eckhardt, mais il comprit d'une façon un peu différente leurs rapports avec le nerf olfactif. Les cellules fusiformes seraient de simples cellules de remplacement, et le nerf olfactif se terminerait uniquement dans les cellules épithéliales. Les travaux d'Eckhardt et d'Ecker attirèrent l'attention de Max Schultze, qui étendit ses recherches à différents vertébrés (*Untersuchungen über den Bau der Nasenschleimhaut*, Halle, 1862) et trouva chez tous les deux espèces de cellules découvertes par Eckhardt chez la grenouille. Mais les conclusions auxquelles il arriva, relativement au rapport de ces éléments avec les nerfs, sont tout à fait différentes de celles d'Eckhardt et de celles d'Ecker. Se fondant surtout sur les varicosités que présente, sous l'influence des solutions chromiques faibles, le prolongement central des cellules fusiformes, il pensa que le nerf olfactif se terminait dans ces cellules; mais il ne put observer la continuité directe de leur prolongement avec les fibrilles nerveuses.

Le schéma de Schultze a été accepté par tous les auteurs qui l'ont suivi : Babuchin (*Manuel de Stricker*, 1872, t. II), v. Brunn (*loc. cit.*, Cf. *Arch. f. micr. Anat.*, t. XI, p. 468), Krause (*Handbuch der menschl. Anatomie*, 1876, p. 176), à l'exception d'Exner (*Comptes rendus de l'Académie des sciences de Vienne*, 1871, t. LXIII, 2e partie, p. 44 ; 1872, t. XIII, 3e partie, p. 7, et 1877, t. LXXVI, 3e partie, p. 171) qui, revenant à la manière de voir d'Ecker, considère les cellules fusiformes d'Eckhardt (cellules olfactives de Max Schultze) comme des cellules épithéliales ordinaires en voie d'évolution.

compris le noyau et qui se termine par un bord dentelé. Les écailles des différentes cellules sont couchées à la face interne de la membrane glandulaire et se recouvrent comme les tuiles d'un toit.

Chez les poissons, dont l'olfaction est aquatique, la muqueuse olfactive ne contient pas de glandes, ce qui conduit à penser que chez les animaux à olfaction aérienne les glandes sont destinées simplement à donner du liquide pour humecter la surface de la membrane.

Chez la grenouille et chez les autres batraciens, des coupes verticales et transversales des fosses nasales, faites après l'action successive de l'alcool, de l'acide picrique, de la gomme et de l'alcool, montrent, de chaque côté de la cloison, dans l'épaisseur de la muqueuse, au-dessous des glandes olfactives, la section d'un nombre considérable de conduits ou de culs-de-sac glandulaires. Les uns renferment seulement des cellules granuleuses; les autres, des cellules granuleuses et des cellules caliciformes en diverses proportions; dans certains, toutes les cellules sont à cils vibratiles. Les cellules granuleuses contiennent une substance qui se colore en rouge vif par le picrocarminate et en violet intense par le bleu de quinoléine. Ces glandes ont la forme de tubes; leurs canaux excréteurs, munis de cils vibratiles pour favoriser l'excrétion, viennent, après avoir contourné le maxillaire supérieur, s'ouvrir, par une série d'orifices distincts, sur la muqueuse palatine. Leur produit de sécrétion se déverse donc dans la bouche et sert probablement à la digestion.

Chez la plupart des mammifères, les glandes de la portion respiratoire des fosses nasales sont de petites glandes en grappe formées d'un certain nombre de culs-de-sac qui sont tapissés de cellules caliciformes et viennent s'ouvrir dans un canal excréteur commun. Chez le lapin, on trouve, dans la région inférieure de la cloison, au-dessous de la muqueuse, une glande étalée en surface dont les acini présentent la structure de ceux de la glande parotide et dont les canaux excréteurs possèdent une couche de cellules striées semblable à celle qui existe dans les canaux excréteurs des glandes salivaires (voy. p. 215). On se demande à quoi servirait dans les fosses nasales une glande de cette nature si les produits qu'elle sécrète ne pouvaient arriver directement jusque dans la cavité buccale par les conduits palatins antérieurs.

Le stroma de la muqueuse olfactive, limité par une membrane basale plus ou moins épaisse suivant les régions, est constitué par des faisceaux connectifs entre-croisés dans toutes les directions et séparés par des cellules connectives ordinaires. On y observe également des cellules migratrices.

Ainsi qu'on peut le constater sur des coupes faites par n'importe quelle méthode et surtout après l'injection du système vasculaire, les vaisseaux sanguins sont extrêmement abondants dans la muqueuse pituitaire. Les veines y sont volumineuses et très superficielles.

Le nerf olfactif a une structure toute spéciale. Il est composé de fibres sans myéline, qui diffèrent des fibres de Remak par plusieurs caractères,

ainsi qu'on peut le reconnaître sur des préparations obtenues, soit par dissociation, soit par coupes.

Pour dissocier le nerf olfactif, la meilleure méthode consiste à détacher avec soin, chez le chien, le lapin ou tout autre mammifère, la muqueuse qui recouvre la cloison dans sa région supérieure et à la soumettre pendant quelques heures à l'action de l'acide osmique. On peut alors en dégager sans difficulté des filets du nerf olfactif qui cheminent de haut en bas dans sa couche profonde et qui sont colorés en brun plus ou moins foncé. En les examinant au microscope, on reconnaît que cette coloration est diffuse et qu'elle n'est nullement liée à la présence de tubes nerveux à myéline. La dissociation faite avec les aiguilles suivant les indications données page 64 permet d'en obtenir des faisceaux ayant tous à peu près le même diamètre. Ils sont nettement striés en long et contiennent dans leur intérieur des noyaux ovalaires dont l'axe est longitudinal. Ces faisceaux nerveux, faisceaux primitifs, diffèrent des fibres de Remak par leur diamètre plus considérable, par la coloration brune qu'ils prennent sous l'influence de l'acide osmique et par l'absence d'anastomoses. En quelques points, ils sont séparés les uns des autres par des cellules connectives aplaties, munies de crêtes d'empreinte et semblables à celles que l'on trouve dans le tissu conjonctif intra-fasciculaire des nerfs ordinaires (voy. p. 586). Les cordons nerveux d'un certain diamètre contiennent aussi des cloisons connectives et des vaisseaux sanguins.

La constitution des cordons du nerf olfactif doit être étudiée sur des sections transversales, comme celles que l'on obtient par exemple dans des coupes bien orientées de la muqueuse olfactive, durcie par l'acide osmique ou les bichromates alcalins. Chacun de ces cordons y paraît entouré d'une gaine connective simple ou stratifiée, gaine lamelleuse, doublée à sa face interne de cellules aplaties. Les faisceaux primitifs se montrent, au dedans de cette gaine, comme autant de cercles dans l'intérieur desquels on aperçoit des noyaux et un nombre considérable de petits champs représentant la section de fibrilles ou plutôt de groupes de fibrilles nerveuses. Ces champs sont séparés les uns des autres par des lignes claires correspondant à une gangue protoplasmique qui s'étend dans le faisceau primitif tout entier jusqu'à sa surface. Dans les coupes faites parallèlement à la direction des cordons du nerf olfactif, on voit ces cordons se diviser, se subdiviser et gagner successivement la surface de la muqueuse.

Des coupes de l'éminence olfactive du brochet, faites après durcissement par l'acide osmique, montrent les fibres du nerf olfactif arrivant au fond des sillons de l'éminence, où ils atteignent les capsules si bien décrites par M. Schultze et qui seules contiennent de l'épithélium olfactif. Le reste de la surface de l'éminence est occupé par un épithélium stratifié dont les cellules superficielles portent des cils vibratiles [1]. Quelques-uns des faisceaux nerveux

1. Quelques-unes des cellules de l'épithélium stratifié contiennent des globes d'une matière réfringente, observés d'abord par Schultze qui n'a pu déterminer leur nature. Comme ils se colorent en noir sous l'influence de l'acide osmique, il est fort probable qu'ils ne sont autre chose que des gouttes de graisse.

dépassent la limite inférieure des capsules, pénètrent dans l'épithélium olfactif en écartant les cellules qui le composent, et y parcourent un trajet plus ou moins compliqué avant d'arriver à leur terminaison. Ce fait suffit à montrer que le schéma que Schultze avait fondé sur l'observation de l'organe olfactif du brochet ne saurait être conservé dans son intégrité[1].



Fig 346. — Schéma de la terminaison du nerf olfactif chez le brochet, d'après Max Schultze. — *f*, faisceau élémentaire du nerf olfactif; *e*, fibrilles qui le composent; en *d*, ces fibrilles sont devenues libres; *b*, prolongement périphérique des cellules olfactives; *c*, prolongement central de ces cellules; *a*, leur noyau.

Chez les mammifères, dans les coupes faites simplement après l'action de l'acide osmique, il est impossible de suivre les fibres nerveuses au delà de la membrane limitante.

La méthode de l'or n'est guère plus avantageuse. Cependant le procédé de Cohnheim a permis à Babuchin[2] de voir des fibres nerveuses pénétrer dans l'épithélium. Il dit même avoir pu suivre une fois, dans une préparation de la muqueuse olfactive de la tortue, les fibrilles nerveuses jusqu'aux noyaux des cellules olfactives. Von Brunn, qui dans son dernier travail[3] a appliqué le procédé de Löwit à la préparation de la muqueuse olfactive des mammifères, n'a même pas été aussi heureux.

Si l'on plonge la muqueuse olfactive du chien, du lapin, etc., deux minutes dans le jus de citron et vingt minutes dans le chlorure d'or à 1 pour 100, et que, la réduction ayant été obtenue dans de l'eau légèrement acétifiée, on en fasse des coupes perpendiculaires à la surface, on y verra les fibres nerveuses résultant de la division et de la subdivision du nerf olfactif atteindre la membrane basale, la traverser, se diviser encore, poursuivre leur trajet, dépasser les cellules basales et s'infléchir pour concourir à la formation d'un plexus plus ou moins compliqué qui les recouvre. Mais les fibres de ce plexus, qui sont nettement colorées en violet,

1. Schultze, dans son grand mémoire, a donné de la terminaison des nerfs dans l'organe olfactif du brochet une figure schématique que l'on a souvent reproduite. Il a suivi les faisceaux nerveux jusqu'à la limite des cupules et, ne pouvant les distinguer au delà avec les méthodes qu'il employait alors, il a supposé qu'ils se décomposaient en leurs fibrilles constitutives, lesquelles se rendaient directement aux cellules sensorielles dont elles constituaient le prolongement central. Cependant, dans la figure dont il est question ici (voy. fig. 346), il a tracé une ligne horizontale entre les fibrilles nerveuses et les prolongements centraux des cellules olfactives, indiquant qu'à ce niveau il n'a pu suivre leur continuité.

2. *Babuchin*. Das Geruchsorgan. (*Stricker's Handbuch*, p. 975.)

3. *Von Brunn*, Weitere Untersuchungen über das Riechepithel. (*Arch. f. micr. Anat.*, XVII, p. 141.)

ne paraissent pas se continuer avec les prolongements centraux des cellules olfactives qui sont restés incolores, et il est impossible de se prononcer sur leur terminaison ultime.

On obtiendra des préparations bien plus démonstratives en employant une méthode nouvelle.

Ce qui, dans les coupes faites après l'action directe de l'acide osmique, empêche de suivre les fibres nerveuses au delà de la membrane limitante, c'est que, les cellules étant exactement appliquées les unes sur les autres, il est difficile de distinguer leurs limites et impossible d'apercevoir les éléments délicats qui leur sont interposés. Il n'en est plus de même si, avant de faire agir l'acide osmique, on a déterminé une légère séparation des cellules épithéliales au moyen d'un liquide dissociateur, l'alcool au tiers par exemple. C'est ainsi que la muqueuse olfactive de la grenouille, de la salamandre, du triton ou même du lapin et du chien, ayant séjourné successivement une à deux heures dans l'alcool au tiers et cinq ou six heures dans l'acide osmique à 1 pour 100, mise à dégorger dans l'eau, puis traitée pendant quelques heures par l'alcool fort, fournit des coupes verticales dans lesquelles on peut aisément suivre les fibrilles nerveuses. Comme dans les préparations obtenues au moyen de la méthode de l'or, on les voit, au delà de la membrane limitante, s'engager dans l'épithélium pour s'incurver au-dessus des cellules basales et en s'entre-croisant y affecter une disposition plexiforme; mais de plus, on peut reconnaître, au moins en quelques points, que les prolongements centraux des cellules olfactives sont en rapport de continuité avec les fibres du plexus basal[1].

ORGANES DU GOUT.

Les organes du goût sont représentés chez les mammifères par de petits bourgeons cellulaires, *bourgeons du goût*, logés dans des cupules spéciales au sein de l'épithélium pavimenteux stratifié de certaines régions de la langue, du voile du palais et de l'épiglotte. Ils reposent sur le chorion de la muqueuse par une base relativement large, au niveau de laquelle il leur arrive des fibres nerveuses provenant du glosso-pharyngien. Leur sommet correspond à une ouverture arrondie généralement étroite, *pore du goût*, creusée dans la couche lamellaire superficielle de l'épithélium. Les cellules qui les composent sont allongées et s'étendent depuis leur base jusqu'à leur sommet, de telle sorte que les extrémités libres de ces cellules, engagées dans le pore du goût, se trouvent en rapport direct avec les substances sapides.

1. Des faits qui viennent d'être indiqués et que l'on pourra constater sans grande difficulté, il résulte que les histologistes qui prétendent avoir vu les fibrilles du nerf olfactif, après avoir traversé la membrane basale, se continuer directement avec les prolongements centraux des cellules olfactives, ont été victimes d'une illusion. Exner avait déjà cru remarquer que le nerf olfactif se termine dans un plexus, mais il plaçait ce plexus immédiatement au-dessous de l'épithélium en avant de la membrane basale. En réalité, comme on pourra facilement s'en convaincre, l'entre-croisement plexiforme des nerfs se fait au sein même de l'épithélium en avant des cellules basales.

L'épithélium pavimenteux de la langue est formé de trois couches distinctes, ainsi qu'on peut l'apprécier en examinant des coupes faites après l'action de l'alcool et colorées par le picrocarminate : une couche profonde, dans laquelle les cellules, colorées en brun clair, montrent une dentelure marginale bien accusée, plus nette encore que dans le corps muqueux de Malpighi (voy. p. 674), une couche moyenne, dans laquelle elles sont légèrement aplaties, dépourvues de dentelures et colorées uniformément en rouge, et une couche superficielle où elles sont lamellaires et colorées en jaune.

Lorsque l'on a fait macérer pendant quelques jours des lambeaux de la muqueuse linguale dans l'alcool au tiers, on dissocie sans difficulté l'épithélium qui les recouvre. Après avoir ajouté du picrocarminate aux éléments isolés, on reconnaît les cellules des différentes couches à leur coloration spéciale, et on constate que les cellules lamellaires de la couche superficielle, dont le corps se colore en jaune, contiennent des noyaux ovalaires, légèrement aplatis et colorés en rouge.

La couche lamellaire superficielle est plus ou moins épaisse, plus ou moins résistante, suivant les régions de la langue et aussi suivant les animaux, mais toujours elle conserve ce caractère d'être formée de cellules nucléées, ce qui la distingue de la couche cornée de l'épiderme. En général, elle ne se colore pas en noir sous l'influence de l'acide osmique. Cependant, si l'on examine les grosses papilles dentées du chien sur des coupes faites après l'action de ce réactif, on est frappé de voir que la couche lamellaire, dont l'épaisseur est relativement considérable à la surface de ces papilles, présente dans sa partie profonde une zone colorée en noir, et que les cellules polyédriques sous-jacentes contiennent des gouttes de graisse. On peut interpréter ces faits de la façon suivante : les cellules profondes et les cellules moyennes du revêtement épithélial élaborent de la graisse qui se montre dans leur intérieur sous forme de granulations ou de gouttes distinctes, puis devient diffuse dans la couche lamellaire, tandis que tout à fait à la surface elle est progressivement dissoute par les liquides alcalins de la bouche. C'est là un mode d'infiltration graisseuse bien différent de celui que l'on observe dans la couche cornée de l'épiderme (voy. p. 672), quoiqu'il paraisse avoir également pour but de protéger le revêtement épithélial contre les agents extérieurs.

En général, sur aucun point de la langue, on ne trouve rien qui ressemble au *stratum granulosum* de l'épiderme. Les cellules polyédriques légèrement aplaties sur lesquelles repose la couche lamellaire de l'épithélium paraissent bien contenir à l'état diffus une substance qui se colore en rouge par le carmin, mais on n'y distingue pas de grains ou de gouttes d'éléidine. Il y a cependant une exception à cette règle : chez l'homme, au voisinage du V lingual, sur certaines papilles de dimension moyenne, aplaties ou légèrement excavées à leur sommet, on observe un épithélium semblable à l'épiderme, en ce sens qu'aux couches profondes formées de cellules dentelées se succèdent deux ou trois rangées de cellules polyédriques, contenant de

grosses gouttes d'éléidine, puis des cellules soudées constituant un *stratum lucidum :* mais il ne se forme pas de couche cornée proprement dite, par suite de la desquamation rapide qui se produit sous l'influence du liquide buccal et des aliments.

Nous ne donnerons pas ici la description des différentes papilles de la muqueuse linguale; on la trouvera dans tous les traités d'anatomie. Les organes du goût siègent seulement dans les papilles caliciformes, les papilles fungiformes et, chez certains animaux, le lapin par exemple, dans deux petits organes spéciaux situés sur la partie postérieure des bords latéraux de la langue, les papilles foliées[1]. L'organe folié du lapin se montre sous la forme d'un disque ovale, rosé, à peine saillant, et sur lequel on distingue à l'œil nu ou à la loupe une des crêtes parallèles qui rappellent celles de la pulpe des doigts. C'est là l'objet qu'il faut choisir pour faire une première étude des organes du goût.

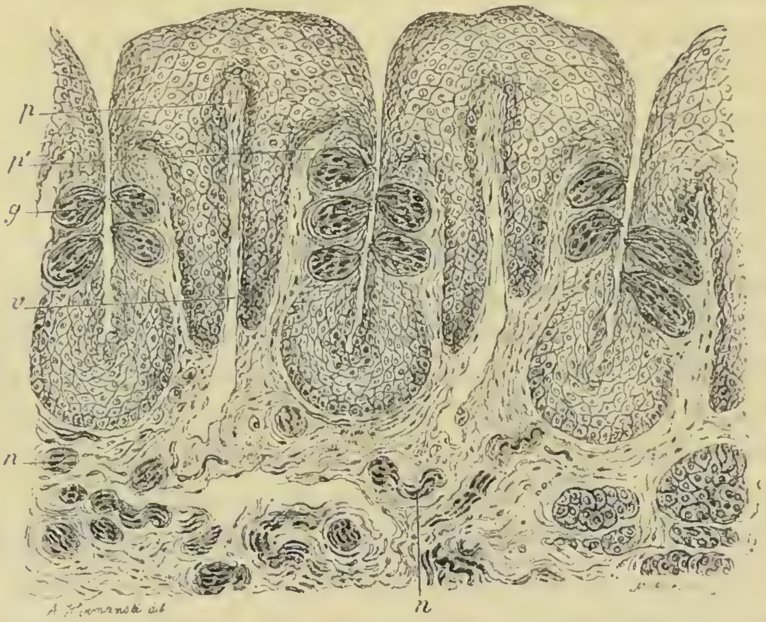


Fig. 517. — Coupe de l'organe folié du lapin, faite perpendiculairement à l'axe des crêtes. — *p*, crête vasculaire; *v*, section transversale de la veine qui la parcourt dans toute sa longueur; *p'*, crête nerveuse; *g*, bourgeon du goût; *n*, coupes des nerfs afférents; *a*, glande séreuse.

Ces organes doivent être examinés d'abord dans des préparations faites par le procédé suivant : après avoir détaché l'organe folié et avoir enlevé complètement avec des ciseaux le tissu musculaire qui le double, on l'expose pendant une heure environ à l'action des vapeurs d'acide osmique dans un petit flacon bouché; on le place ensuite pendant vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, puis on le porte dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100, d'où on le retire vingt-quatre heures après pour le plonger dans deux centimètres cubes environ d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Lorsqu'il y a séjourné pendant huit ou dix heures, on le laisse dégorger dans l'eau et on complète le durcissement par l'alcool. On y fait des coupes verticales, perpendiculaires à la direction des crêtes papillaires, et on les monte dans la glycérine.

Dans ces coupes, on reconnaît que chaque crête est composée de trois crêtes

1. C'est von Wyss d'abord (*Die becherformigen Organe der Zunge*, Arch. f. micr. Anat., 1870, p. 237) et Engelmann ensuite (*Die Geschmacksorgane*, Manuel de Stricker, p. 822) qui ont attiré sur les papilles foliées l'attention des histologistes, qui ont montré leur richesse en bourgeons du goût et la disposition remarquable qu'ils y présentent.

dermiques ayant une enveloppe épithéliale commune (voy. fig. 547). La crête centrale, qui est la plus élevée, montre en son milieu une cavité vide ou contenant quelques globules de sang, correspondant à la section d'une veine qui la parcourt suivant sa longueur. Les deux crêtes latérales contiennent un grand nombre de fibres nerveuses qui y montent en s'entrelaçant et vont se rendre aux bourgeons du goût logés dans l'épithélium qui recouvre leur face externe.

Ces bourgeons ont la forme d'un œuf; leur grand axe est transversal ou légèrement oblique de haut en bas. Dans ces préparations, ils sont parfaitement nets, parce que leurs noyaux sont colorés tandis que ceux des cellules épithéliales qui les entourent sont incolores. Cette différence tient à ce que la solution de carmin, infiltrant d'abord le chorion muqueux, a pénétré dans l'intérieur des bourgeons du goût par leur base.

Avant de poursuivre l'analyse des préparations obtenues à l'aide de cette méthode, il est utile d'observer à l'état d'isolation complète les éléments qui composent les bourgeons du goût et les cellules épithéliales qui les avoisinent. Pour cela, il suffit de les dissocier après avoir laissé l'organe folié dans le sérum iodé ou dans l'alcool au tiers pendant quelques jours.

Les cellules que l'on isole ainsi, et qu'il est bon de colorer au moyen du picrocarminate, sont de formes très variées. La plupart d'entre elles se montrent avec les caractères qui ont été indiqués plus haut et qui permettent de les rattacher aux trois couches du revêtement épithélial ordinaire; mais il en est d'autres que leur forme fait reconnaître comme appartenant, soit aux bourgeons du goût, soit aux cupules épithéliales qui les contiennent. Parmi ces dernières, les unes, colorées en jaune tandis que leur noyau aplati présente une teinte rouge, montrent sur un de leurs bords une échancrure circulaire, plus ou moins profonde, qui correspond à un pore du goût; certaines d'entre elles, beaucoup plus rares que les précédentes, portent, au lieu d'une échancrure, un trou arrondi comme fait à l'emporte-pièce. Il en est même où l'on observe deux trous de ce genre, plus ou moins rapprochés l'un de l'autre. Ces trous correspondent à des pores du goût; de même que les échancrures, ils sont limités par une bordure appartenant au corps cellulaire, mais paraissant formée d'une substance plus réfringente et présentant des stries rayonnées plus ou moins marquées.

D'autres cellules, colorées en rouge uniforme, paraissent semi-lunaires lorsqu'elles sont vues de profil, mais ont en réalité la forme d'une tuile creuse, ainsi qu'on en juge en les faisant rouler dans la préparation; certaines enfin sont hérissées de piquants, excepté sur une de leurs faces qui est plane ou légèrement excavée. Les unes et les autres concourent évidemment à former la paroi de la cupule épithéliale dans laquelle sont contenus les bourgeons du goût.

Quant aux cellules qui composent les bourgeons du goût eux-mêmes, on les reconnaît à leur longueur et à leur forme en fuseau; du reste, on les rencontre souvent groupées en nombre plus ou moins considérable dans des bourgeons dissociés seulement d'une façon partielle, et dont on peut déter-

miner la dissociation complète en pressant à plusieurs reprises avec l'aiguille sur la lamelle recouvrante. Ces cellules ne sont pas toutes semblables. Les unes ont la forme d'un fuseau très allongé et présentent un prolongement central effilé ; leur prolongement périphérique est légèrement aplati et se termine par un bâtonnet réfringent et homogène ; elles contiennent un noyau ovalaire allongé dont le grand axe est longitudinal ; ce sont là les cellules sensorielles, *cellules gustatives*.

Les autres sont plus aplaties, plus irrégulières ; leur noyau est plus large ; elles se terminent en pointe à leur extrémité périphérique, tandis qu'à leur extrémité centrale elles se divisent ou se renflent légèrement pour former une sorte de pied ; ce sont là les cellules recouvrantes de Lovén et de Schwalbe, cellules auxquelles convient mieux le nom de *cellules de soutènement*.



Fig. 548. — Coupe d'un bourgeon du goût faite suivant l'axe de ce bourgeon, après traitement de l'organe folié par le procédé indiqué dans le texte. — *p*, pore du goût ; *s*, cellule gustative ; *r*, cellule de soutènement ; *m*, cellule migratrice chargée de granulations graisseuses ; *e*, cellules épithéliales ; *n*, nerf afférent.

Après l'action prolongée du sérum iodé ou de l'alcool au tiers, les cellules sensorielles et les cellules de soutènement, qui sont des éléments très délicats, présentent souvent des irrégularités de forme et même des altérations profondes qui dépendent de l'action de ces réactifs. Dans ces conditions, il est difficile de les distinguer les unes des autres, et l'on a de la peine à apprécier le siège qu'elles occupent dans les bourgeons partiellement dissociés.

Les coupes faites après l'action successive des vapeurs d'acide osmique, de l'alcool au tiers, du picrocarminate et de l'acide osmique, si elles sont assez minces et si elles passent exactement par l'axe d'un bourgeon du goût, donnent à ce sujet des renseignements beaucoup plus exacts. On y voit (fig. 548), au sein même du bourgeon, les cellules gustatives caractérisées par leurs noyaux allongés et leurs bâtonnets qui, réunis en faisceau, traversent le pore du goût, et, logées dans leurs intervalles, les cellules de soutènement, que l'on reconnaît à leurs corps protoplasmiques granuleux plus larges et à leurs noyaux plus arrondis, dont l'ensemble dessine une courbe concave en dehors. Pour se rendre compte de la situation relative de ces deux espèces de cellules et pour se convaincre qu'il existe des cellules de soutènement interposées aux cellules sensorielles, on fera bien de dissocier les coupes faites au moyen du procédé qui vient d'être indiqué, soit directement avec les aiguilles, soit en comprimant à plusieurs reprises la lamelle qui recouvre la préparation.

A la périphérie, le bourgeon du goût est limité par des cellules de soutènement qui, sur un bourgeon examiné tout entier, masquent en partie les cellules sensorielles et les cellules de soutènement intercalaires, ce qui explique pourquoi Lovén et Schwalbe ont méconnu ces dernières cellules[1].

On observe presque constamment, entre les cellules qui composent les bourgeons du goût, des groupes arrondis ou irréguliers de granulations graisseuses colorées en noir par l'acide osmique, au centre de chacun desquels on reconnaît un noyau arrondi ou bosselé. Ce sont là des cellules lymphatiques, qui, dégagées du derme, ont pénétré dans les bourgeons du goût au niveau de leur base et ont cheminé entre les éléments qui les composent en vertu de leur activité amiboïde. Dans leur migration, ces cellules se sont chargées de granulations graisseuses[2], comme il leur arrive souvent lorsqu'elles se trouvent dans des conditions de nutrition défavorables ou lorsqu'elles sont placées entre des éléments qui leur abandonnent de la graisse. Il est probable qu'elles jouent un rôle important dans la formation du pore du goût. On a vu plus haut que ce pore, qui d'ordinaire est limité par le bord des cellules épithéliales lamellaires de la surface, est quelquefois creusé au sein même de l'une de ces cellules. Or, si l'on se reporte à ce qui a été dit page 508 sur le rôle que jouent les cellules lymphatiques dans la formation des trous du grand épiploon du lapin, on comprendra comment les cellules migratrices des bourgeons du goût peuvent être les agents actifs de la perforation des cellules épithéliales superficielles, perforation que l'on aurait du reste de la peine à concevoir autrement.

On a vu également que certaines cellules épithéliales superficielles présentent deux trous situés dans le voisinage l'un de l'autre. Ces deux pores si rapprochés correspondent à des bourgeons du goût jumeaux, associés dans une même cupule, disposition que l'on observera souvent.

La méthode de l'or appliquée à l'étude de l'organe folié du lapin fournit des préparations démonstratives : cet organe, après avoir été enlevé et débar-

1. Les bourgeons du goût ont été découverts à peu près simultanément par Lovén (*Beiträge zur Kenntniss vom Bau der Geschmackwärzchen der Zunge*, *Arch. f. micr. Anat.*, t. IV, p. 96) et par Schwalbe (*Ueber die Geschmacksorgane der Saügethiere und des Menschen*, *Arch. f. micr. Anat.*, t. IV, p. 154). Ces auteurs ont parfaitement décrit et figuré l'arrangement et la forme des cellules épithéliales qui entourent les bourgeons et les deux espèces de cellules qui les composent : mais ils ont pensé que le centre des bourgeons était entièrement occupé par des cellules sensorielles et que les cellules de soutènement existaient seulement à la périphérie : c'est pour cela qu'ils les ont nommées cellules recouvrantes. Tout récemment, Merkel (*Ueber die Endigung der sensiblen Nervenfasern*, Rostock, 1880) a fait remarquer qu'il existait aussi des cellules de soutènement dans l'épaisseur des bourgeons, entre les cellules du goût proprement dites. Mes recherches m'ont conduit au même résultat. Ainsi se trouve complétée l'analogie entre les bourgeons du goût et l'épithélium olfactif, dans lequel les cellules épithéliales proprement dites, qui ne sont autre chose que des cellules de soutènement, sont interposées aux cellules sensorielles.

2. Vintschgau (*Beobachtungen über die Veränderungen der Schmeckbecher nach Durchschneidung des N. glosso-pharyngeus*, *Arch. de Pflüger*, t. XXIII, 1880, p. 1), qui a observé dans les bourgeons du goût ces groupes de granulations graisseuses dans des coupes faites après l'action de l'acide osmique, n'a pas vu qu'ils étaient contenus dans des cellules lymphatiques, et par conséquent il n'a pas compris leur signification.

rassé complètement de la couche musculaire qui le double, sera placé pendant 10 minutes dans le jus de citron et pendant 40 à 60 minutes dans la solution de chlorure d'or à 1 pour 100. Après que la réduction aura été obtenue dans l'eau acétifiée, le durcissement sera complété par l'action de l'alcool. Les coupes, faites perpendiculairement à la direction des crêtes papillaires, seront gonflées au moyen de l'acide formique et conservées dans la glycérine.

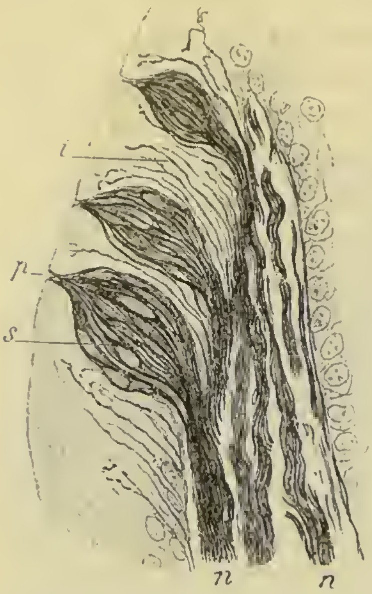


Fig. 549. — Coupe de l'appareil folié du lapin traité par la méthode de l'or. — *p*, pore du goût; *s*, cellule gustative; *i*, fibres nerveuses intra-épithéliales; *n*, nerf afférent.

Dans ces coupes, l'épithélium ordinaire est à peine teinté, tandis que la plupart des bourgeons du goût sont colorés en violet dans toute leur masse, ce qui indique que les deux espèces de cellules qui les composent ont pour le sel d'or une très grande affinité. Les nerfs qui montent dans les crêtes papillaires sont également colorés, et on les voit émettre successivement des rameaux qui se rendent à la base des bourgeons et se perdent dans leur intérieur. Dans quelques-uns de ces bourgeons, où les cellules sensorielles sont plus fortement colorées que les cellules de soutènement, on peut reconnaître qu'elles sont en rapport de continuité avec des fibrilles nerveuses. Leurs bâtonnets terminaux sont également colorés en violet foncé.

En outre, l'épithélium stratifié qui avoisine les différents bourgeons du goût contient un grand nombre de fibrillles nerveuses intra-épithéliales provenant également des nerfs qui cheminent dans les crêtes papillaires[1] (voy. fig. 549). Ces fibres ont la même disposition que celle de l'épiderme. Après s'être divisées et subdivisées, elles

1. Lorsque, à l'exemple de Vintschgau (*loc. cit.*), on coupe chez un lapin un des glosso-pharyngiens, il se produit dans l'organe folié correspondant des modifications profondes, déjà bien marquées quarante-huit heures après la section, et qui conduisent finalement à la disparition complète des bourgeons du goût. C'est ainsi que, quarante jours après l'opération, il n'en reste d'ordinaire pas la moindre trace. Vintschgau n'a pas vu ce que deviennent les cellules sensorielles; quant aux cellules de revêtement (cellules de soutènement), il suppose qu'elles se transforment en cellules épithéliales ordinaires.

Si j'en juge par les expériences que j'ai faites à ce sujet, les choses se passeraient d'une tout autre façon. Les cellules sensorielles dégénéreraient et seraient détruites sur place; les cellules de soutènement, après avoir montré d'abord quelques phénomènes d'hypernutrition, seraient expulsées successivement par le pore du goût, tandis que les cellules épithéliales qui limitent la cupule du goût, continuant à évoluer et à s'accroître, restreindraient peu à peu cette cupule et finalement la feraient disparaître.

Pendant que l'organe du goût est en voie d'atrophie, on y observe un grand nombre de cellules migratrices chargées de granulations graisseuses. Il est vraisemblable que ces cellules concourent pour une part importante à l'expulsion des éléments des bourgeons du goût. Cette manière de voir est fondée sur l'examen de l'appareil folié du lapin soixante heures après la section du glosso-pharyngien. A cette période, la limite des cupules du goût est encore bien marquée: les cellules sensorielles ont presque complètement disparu; les cellules de soutènement, qui ont pris une forme irrégulière et possèdent des noyaux plus volumineux qu'à l'état normal, sont entremêlées de cellules migratrices. Quelques-unes

se terminent par des boutons plus ou moins rapprochés de la surface. Sertoli a observé dans les papilles foliées du cheval des fibres nerveuses intra-épithéliales analogues[1].

Dans les papilles fungiformes des différents mammifères, les bourgeons du goût sont en petit nombre et disposés comme au hasard dans leur revêtement épithélial.

Dans les papilles caliciformes qui, comme on le sait, sont limitées par un sillon profond dont les deux faces sont recouvertes d'épithélium stratifié, les bourgeons du goût sont distribués en très grand nombre sur la face interne du sillon, qui appartient à la papille, tandis qu'il n'en existe que très peu dans l'épithélium qui revêt la face externe de ce sillon.

Pour étudier les bourgeons du goût, soit dans les papilles fungiformes, soit dans les caliciformes, on pourra employer les méthodes qui ont été indiquées pour la préparation des appareils foliés du lapin. Seulement, il faut noter que ces papilles, les caliciformes surtout, ont des dimensions telles que, si on les laissait entières, l'acide osmique ou le chlorure d'or n'atteindraient que faiblement ou même pas du tout les bourgeons du goût et les nerfs qui en occupent la base. Aussi, lorsque l'on veut obtenir une bonne imprégnation des bourgeons du goût des papilles caliciformes du chien et même de celles du lapin, il est nécessaire, non seulement de les enlever avec une quantité aussi faible que possible des tissus qui bordent leur sillon et de les débarrasser du tissu musculaire qui les double, mais encore de les diviser avec le scalpel avant de les soumettre à l'action des réactifs.

Cependant, si l'on se propose seulement d'étudier les nerfs qui se rendent à ces papilles, il suffira de les placer tout entières dans le liquide de Müller ou dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. On pourra constater ainsi, en les examinant, soit sur des coupes transversales, soit sur des coupes longitudinales, qu'il arrive à chacune d'elles un ou deux petits nerfs auxquels sont annexés des groupes de cellules ganglionnaires. Ces nerfs, qui proviennent du glosso-pharyngien, se divisent et se subdivisent pour donner un grand nombre de rameaux qui se distribuent aux bourgeons du goût.

Pour étudier la disposition des vaisseaux dans les papilles caliciformes et

des cupules ne renferment plus qu'un petit nombre de cellules et sont revenues sur elles-mêmes, tandis qu'elles ont conservé leur pore parfaitement net.

La section du glosso-pharyngien est suivie non seulement de la disparition des organes du goût, mais encore de celle des ramifications intra-épithéliales qui les entourent. Cette disparition est déjà presque complète soixante heures après la section, ainsi qu'on peut le constater dans des coupes faites après l'application de la méthode de l'or. Il suit de là que ces ramifications proviennent du nerf glosso-pharyngien; mais cela ne prouve pas qu'elles concourent à la gustation. Ce nerf contient en effet des fibres de la sensibilité générale, soit qu'il les possède en propre, soit qu'il les emprunte à d'autres nerfs, la cinquième paire, par exemple. Si, ce qui est probable, les fibres intra-épithéliales annexées aux organes du goût étaient des fibres de la sensibilité générale, on devrait les considérer comme constituant un appareil protecteur jouant, par rapport à ces organes, le même rôle que l'appareil nerveux de la cornée pour la protection du globe de l'œil et de la rétine par conséquent.

1. *Sertoli*. Osservazioni sulle terminazioni dei nervi del gusto. (*Gazzetta medico-veterinaria. Anno* IV, Cf. *Centralblatt*, 1874, p. 871.)

dans les fungiformes, il faut les injecter, soit par l'artère linguale, soit par la carotide, et les placer tout entières dans l'alcool. Les coupes que l'on en fait doivent être un peu épaisses : les meilleures sont celles qui comprennent l'axe des papilles. A leur centre, on voit généralement une veine très volumineuse donnant des ramifications latérales dans lesquelles viennent se jeter de nombreux vaisseaux capillaires. Entre les bourgeons du goût, à la base desquels les capillaires forment un réseau spécial exceptionnellement riche, on remarque souvent de petites papilles vasculaires complètement noyées dans l'épithélium stratifié qui les sépare. La surface libre ou supérieure de la papille caliciforme, qui ne contient pas de bourgeons du goût, porte souvent des papilles rudimentaires possédant chacune un réseau capillaire plus ou moins distinct.

La distribution des vaisseaux sanguins dans l'organe folié du lapin présente un intérêt tout spécial. On a vu plus haut que chaque crête centrale est parcourue suivant sa longueur par une veine volumineuse. A la limite postérieure de l'organe, cette veine, s'anastomosant avec celles des crêtes voisines, concourt à former un plexus veineux superficiel. De ce plexus, que l'on aperçoit facilement à l'œil nu à travers la muqueuse quand on vient de sacrifier l'animal, on peut faire refluer le sang par pression jusque dans les veines de l'organe folié. Cette disposition, qui se rapproche de celle que l'on observe dans certains appareils érectiles, conduit à penser qu'il pourrait se produire dans l'organe folié des mouvements vasculaires réflexes qui détermineraient la turgescence des crêtes et aiguiseraient ainsi la sensation gustative.

Le développement vasculaire considérable que l'on observe dans des papilles fungiformes et dans les papilles caliciformes des différents mammifères, et surtout la présence dans ces dernières papilles d'une veine centrale volumineuse, font supposer qu'il s'y passe également des phénomènes érectiles ayant une influence sur la gustation.

Au-dessous des papilles caliciformes, on remarque un grand nombre de glandes acineuses, dont les canaux excréteurs débouchent dans le sillon qui les entoure. Dans l'organe folié du lapin, il y a des glandes analogues qui viennent s'ouvrir dans le fond des sillons compris entre les crêtes papillaires. Toutes ces glandes, dont les acini sont tapissés de cellules granuleuses analogues à celles que l'on rencontre dans la parotide, sécrètent un liquide séreux qui, d'après von Ebner[1], serait produit en très grande abondance au moment de la gustation et serait destiné à nettoyer, à balayer, pour ainsi dire, les sillons, de manière à en enlever les substances sapides qui y ont pénétré et à assurer ainsi la pureté de la sensation prochaine.

L'étude des glandes du goût n'exige pas de préparations spéciales. Dans les coupes faites après l'action de l'alcool, des bichromates alcalins ou de l'acide osmique, on peut facilement reconnaître leur disposition générale, leurs

1. V. *Ebner,* Die acinösen Drüsen und ihre Beziehungen zu den Geschmacksorganen. (Graz, 1873. Cf. *Centralb.*, 1874, p. 261.)

canaux excréteurs, leurs acini et la nature de leurs cellules. Des coupes faites sur des pièces injectées permettront d'apprécier la disposition de leur réseau vasculaire, qui ne diffère pas de celui des autres glandes acineuses.

RÉTINE

La rétine se divise en deux couches principales : une interne qui, chez l'homme et la plupart des mammifères, possède des vaisseaux sanguins, une externe qui n'en contient pas. Chez les poissons osseux et chez la grenouille, ces deux couches se séparent l'une de l'autre sous l'influence des solutions chromiques diluées et de l'alcool au tiers.

La partie externe de la rétine est constituée par des cellules sensorielles, *cellules visuelles*, et par un plexus nerveux, *plexus basal*, doublé chez certains animaux de cellules spéciales, *cellules basales*, et constituant avec elles ce que je nommerai la *couche basale*.

Les cellules visuelles, disposées sur une seule rangée perpendiculairement à la couche basale, possèdent un prolongement central qui s'y implante et un prolongement périphérique dont l'extrémité libre regarde en dehors. Cette extrémité, dont les formes variées peuvent être ramenées à deux types principaux, a reçu, suivant celui de ces types auquel elle se rattache, le nom de *cône* ou celui de *bâtonnet*[1].

Cette partie de la rétine est donc comparable à l'épithélium olfactif avec ses cellules sensorielles, ses cellules basales et le plexus nerveux qui les recouvre; elle mérite le nom de *partie névro-épithéliale* de la rétine. Quant aux cellules épithéliales proprement dites ou cellules de soutènement qui existent entre les cellules sensorielles olfactives, elles sont représentées dans la rétine par l'expansion externe d'éléments cellulaires dont le corps et le noyau se trouvent dans la partie interne de cette membrane.

La partie interne de la rétine, *partie cérébrale*, contient un appareil ganglionnaire compliqué. On y distingue de dedans en dehors et s'étageant d'une manière régulière : une couche de fibres nerveuses résultant de l'expansion du nerf optique; une couche de cellules nerveuses multipolaires; une couche d'apparence granuleuse ne contenant d'habitude aucun élément cellulaire, analogue par sa constitution à la substance dite moléculaire de l'écorce du cerveau et que pour cela il convient de désigner sous le nom de *plexus cérébral;* enfin une seconde couche de cellules ganglionnaires sur laquelle repose la couche basale du névro-épithélium. Chez tous les animaux, cette seconde

1. En dehors des cônes et des bâtonnets, se trouve l'épithélium postérieur ou externe de la rétine, formé par une seule rangée de cellules pavimenteuses dont la partie externe contient un noyau et des gouttes de graisse, tandis que leur partie interne pigmentée envoie entre les cônes et les bâtonnets des prolongements protoplasmiques également chargés de granulations de pigment.

Cet épithélium appartient à la rétine et non pas à la choroïde, ainsi qu'il résulte de l'étude du développement. Lorsque, après s'être développée aux dépens de la vésicule cérébrale, la vésicule oculaire primitive est déprimée par le bourgeon ectodermique qui formera le cristallin, sa partie antérieure qui deviendra la rétine est refoulée jusqu'à arriver au contact immédiat de la postérieure qui deviendra l'épithélium pigmenté.

couche, dans laquelle se trouvent compris les noyaux des cellules de soutènement, se sépare encore en deux couches dont l'épaisseur relative est fort variable. L'interne est constituée par des cellules unipolaires dont le prolongement s'enfonce dans le plexus cérébral, l'externe par des cellules bipolaires.

Quant aux cellules de soutènement de la rétine, on les décrit généralement comme des fibres qui traversent toute l'épaisseur de la membrane perpendiculairement à sa surface, et on les désigne sous le nom de fibres rayonnées ou fibres de Müller, du nom du célèbre histologiste qui les a découvertes. Ces cellules ne diffèrent pas essentiellement des cellules de soutènement de l'épithélium olfactif. Leurs pieds, élargis en forme de cônes, se soudent entre eux et forment à la limite interne de la rétine une sorte de membrane, *couche limitante interne*; elles traversent en ligne droite toute la couche cérébrale et le plexus basal, et donnent entre les cellules visuelles des expansions qui se terminent à la base des cônes et des bâtonnets en formant une cuticule, *membrane limitante externe*.

Cette manière de comprendre la rétine, qui repose en partie sur les données de Henri Müller, Max Schultze, Schwalbe, W. Müller, en partie sur des observations personnelles, conduit à considérer à cette membrane de dedans en dehors les couches suivantes : couche limitante interne, couche des fibres du nerf optique, couche des cellules multipolaires, plexus cérébral, couche des cellules unipolaires, couche des cellules bipolaires, couche basale, corps des cellules visuelles, membrane limitante externe, cônes et bâtonnets [1].

Pour acquérir les premières notions de la structure de la rétine, il convient de l'étudier d'abord chez le triton crêté, où la couche des cellules visuelles et certains autres détails se montrent avec une grande évidence. Ayant versé dans un petit flacon fermé par un bouchon de liège un centimètre cube envi-

1. Pour permettre à ceux qui ont déjà étudié la rétine dans les livres classiques et dans les publications récentes de bien comprendre cette nomenclature, je la place ici en regard de celle de Max Schultze (*Manuel de Stricker*) et de celle de W. Müller (*Ueber die Stammesentwicklung der Sehorgans der Wirbelthiere*, in *Beitr. zur Anat. u. Physiol. als Festgabe K. Ludwig gewidmet*. Leipzig, 1875.)

	M. SCHULTZE.	W. MÜLLER.
Couche limitante interne.	Membrane limitante interne.	Membrane limitante interne.
Couche des fibres du nerf optique.	Fibres du nerf optique.	Fibres du nerf optique.
Couche des cellules multipolaires.	Cellules ganglionnaires.	Ganglion du nerf optique.
Plexus cérébral.	Couche granuleuse interne.	Neurosponge.
Couche des cellules unipolaires.	Grains internes.	Spongioblastes.
Couche des cellules bipolaires.		Ganglion de la rétine.
Couche basale.	Couche granuleuse externe.	Couche des origines nerveuses et fulcrum tangentiel.
Corps des cellules visuelles.	Grains externes.	Cellules visuelles.
Membrane limitante externe.	Limitante externe.	Membrane limitante externe.
Cônes et bâtonnets.	Cônes et bâtonnets.	Cellules visuelles.
Cellules de soutènement.	*Fibres de Müller.*	*Fulcrum général.*

ron d'une solution d'acide osmique [1] à 1 pour 100, on enlève les deux yeux de l'animal. On place l'un dans le liquide où on le laissera vingt-quatre heures; après quoi on l'ouvrira et on le mettra dans l'eau distillée afin de l'utiliser plus tard pour des dissociations de la rétine. L'autre œil est fixé par une épingle à la face inférieure du bouchon, qui ensuite est remis en place. Il se trouve ainsi exposé aux vapeurs d'acide osmique, qui, grâce à la minceur de la sclérotique, atteignent rapidement la rétine et en général l'ont suffisamment fixée au bout de dix minutes. On le porte alors dans l'alcool au tiers, et par une incision circulaire pratiquée avec des ciseaux fins on le divise au niveau de son équateur. Le pôle postérieur, après un séjour de quelques heures dans l'alcool au tiers, est placé dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100, dans laquelle on le conserve également quelques heures; on l'en retire pour le plonger directement dans la solution d'acide osmique, afin de fixer les éléments d'une manière définitive, et, après l'avoir fait dégorger dans l'eau, on le traite par l'alcool pour en compléter le durcissement. C'est seulement alors qu'on l'inclut dans le mélange de cire et d'huile pour en faire des coupes perpendiculaires à la surface de la rétine et passant par le nerf optique. Ces coupes, reçues d'abord dans l'alcool, sont ensuite placées dans l'eau et montées en préparations persistantes dans la glycérine.

On y voit le nerf optique qui, après avoir traversé successivement la sclérotique et la choroïde et entre-croisé ses fibres comme l'a indiqué Nicati [2], s'étale à la surface interne de la rétine, immédiatement en dehors de la base des cellules de soutènement, en formant une couche de fibres qui diminue progressivement d'épaisseur du centre à la périphérie.

En dehors, se trouve la couche des cellules ganglionnaires multipolaires; puis s'étagent successivement le plexus cérébral, les cellules unipolaires, les cellules bipolaires, le plexus basal, les corps des cellules visuelles, la membrane limitante externe, et enfin les cônes et les bâtonnets. Entre ces derniers, on aperçoit les prolongements pigmentés des cellules de l'épithélium réti-

1. C'est seulement après l'application des réactifs fixateurs et durcissants que l'on a pu arriver à connaître la structure de la rétine. Cependant, avant l'emploi de ces réactifs, on avait découvert les bâtonnets, parce que pour les voir il suffit d'enlever un lambeau de la rétine de la grenouille et de l'examiner dans l'humeur aqueuse. Cette observation avait été faite par Leeuwenhoek. Treviranus, qui découvrit de nouveau les bâtonnets et les considéra comme des papilles nerveuses terminales, les croyait situés à la face interne de la rétine. Cette illusion fut partagée par tous les histologistes, notamment par Remak (*Arch. de Müller*, 1839, p. 165) et Henle (*Note additionnelle au travail de Remak*); elle persista jusqu'à l'époque où Hannover (*Ueber die Netzhaut und ihre Gehirnsubstanz bei Wirbelthieren mit Ausnahme des Menschen. Arch. de Müller*, 1840, p. 320) démontra qu'ils se trouvent à la face externe de cette membrane.

Ce fut seulement lorsqu'on eut employé l'acide chromique pour durcir la rétine que l'on arriva à reconnaître les principales couches qui la composent. C'est à ce réactif que Henri Müller a dû la découverte des fibres qui portent son nom (*Zur Histologie der Netzhaut. Zeitschr. f. wissensch. Zoologie*, t. III, 1851, p. 234), et si Max Schultze a pu, dans une série de mémoires successifs (*Arch. f. micr. Anatomie*, t. II, III, V, VII, 1866-1871) nous faire connaître un si grand nombre de détails sur les éléments rétiniens, c'est presque uniquement grâce à l'emploi de l'acide osmique qu'il avait, du reste, introduit lui-même dans la technique histologique.

2. *Nicati*, Recherches sur le mode de distribution des fibres nerveuses dans les nerfs optiques et dans la rétine. *Archives de physiologie*, 1875, t. II, p. 521.

nien, dont la partie externe dépourvue de pigment contient un noyau coloré en rouge et des gouttes d'une matière colorée en noir par l'acide osmique.

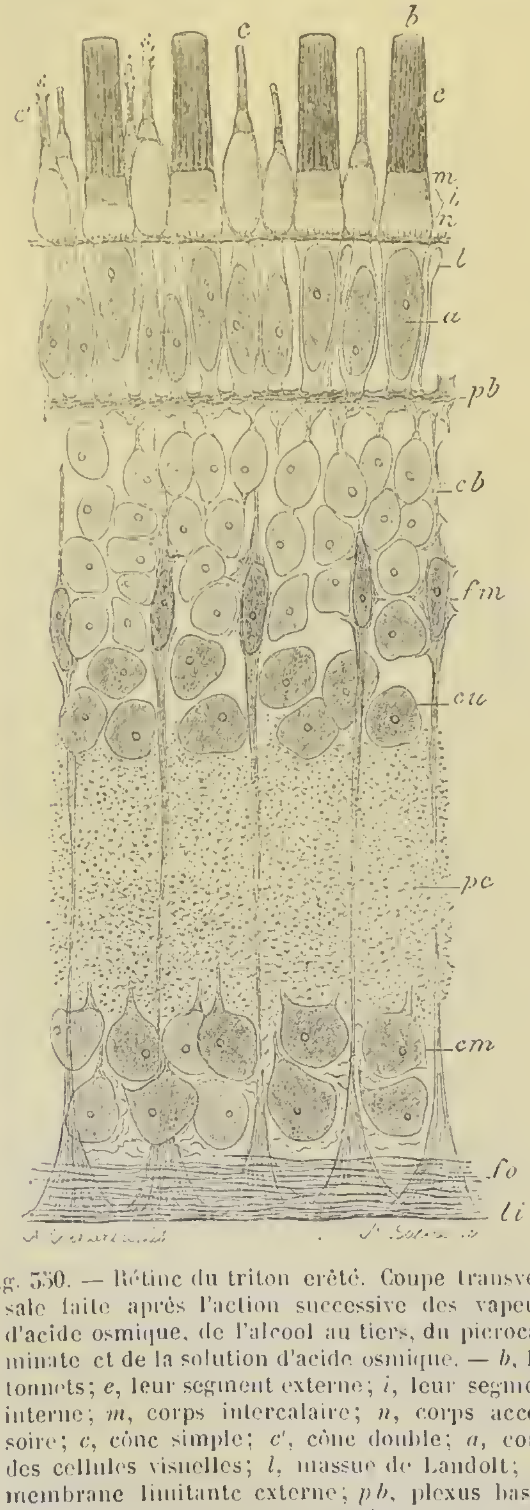


Fig. 550. — Rétine du triton crêté. Coupe transversale faite après l'action successive des vapeurs d'acide osmique, de l'alcool au tiers, du picrocarminate et de la solution d'acide osmique. — *b*, bâtonnets; *e*, leur segment externe; *i*, leur segment interne; *m*, corps intercalaire; *n*, corps accessoire; *c*, cône simple; *c'*, cône double; *a*, corps des cellules visuelles; *l*, massue de Landolt; *le*, membrane limitante externe; *pb*, plexus basal; *cb*, cellules bipolaires; *fm*, cellules de soutènement; *cu*, cellules unipolaires; *pc*, plexus cérébral; *cm*, cellules multipolaires; *fo*, fibres du nerf optique; *li*, limitante interne.

Ces préparations conviennent d'une manière toute spéciale pour l'étude de la couche névro-épithéliale. Les corps des cellules sensorielles y sont disposés sur une seule rangée entre la membrane limitante externe et le plexus basal. Ils sont en majeure partie occupés par des noyaux volumineux, ovalaires, et qui contiennent de gros nucléoles.

Ces cellules présentent chacune un prolongement central court qui s'élargit en s'appliquant sur le plexus basal. Leurs prolongements périphériques traversent la membrane limitante externe, au delà de laquelle ils forment les bâtonnets et les cônes.

Tandis que les bâtonnets sont à peu près cylindriques et tous semblables, les cônes, qui ont la forme d'une bouteille dont la base serait appliquée sur la membrane limitante, ont des dimensions variables: ils sont simples ou associés deux à deux ; on les désigne alors sous le nom de *cônes jumeaux*.

Les bâtonnets et les cônes sont formés de deux parties : une externe qui se colore fortement en noir par l'acide osmique, *segment externe* des bâtonnets ou des cônes, une interne moins fortement colorée par ce réactif, *segment interne*.

Le segment interne des bâtonnets et des cônes simples contient lui-même deux corps particuliers, dont l'externe a été coloré en rouge par le picrocarminate, tandis que l'interne est resté incolore et que le protoplasma proprement dit de la cellule visuelle a pris une coloration rouge-brun clair. Je désignerai le premier de ces corps, qui est à la limite du segment interne et du segment

externe, sous le nom de *corps intercalaire*, et le second sous le nom de *corps accessoire*.

Les deux cônes qui forment un cône double ne sont pas semblables : l'un d'eux, le *cône principal*, a la forme d'un cône simple ; l'autre, le *cône secondaire*, est beaucoup plus mince et excavé sur une de ses faces pour s'emboîter avec le premier. Le cône principal possède un corps intercalaire et un corps accessoire, tandis que le cône secondaire contient seulement un corps intercalaire. A chaque cône double correspondent deux cellules visuelles.

Bien qu'ils forment une seule rangée, les noyaux des cônes et des bâtonnets ne sont pas situés exactement à la même hauteur; ceux des cônes sont toujours un peu plus profonds. Entre les cellules visuelles, en dedans de la membrane limitante externe, on observe des corps particuliers renflés en massue, dépourvus de noyaux et dont la tige semble se perdre dans le plexus basal; ce sont là les massues de Landolt[1].

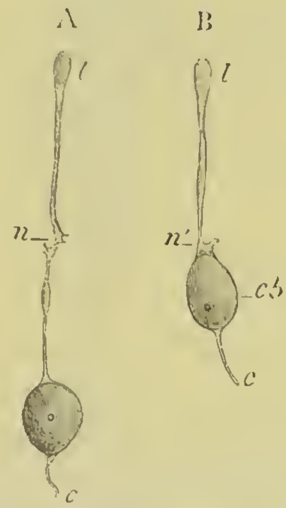


Fig. 551. — Deux massues de Landolt isolées, avec leurs cellules bipolaires respectives, après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée. — *l*, massue; *cb*, cellule bipolaire; *c*, prolongement central de la cellule bipolaire; *n* et *n'*, accidents de forme que présente la tige de la massue au point où elle traverse le plexus basal. Dans la massue A, le corps de la cellule bipolaire appartenait à l'une des rangées inférieures. Dans la massue B, il appartenait à la rangée située immédiatement au-dessous du plexus basal. (Voy. fig. 550.)

Lorsque l'on s'est rendu compte par l'examen de ces coupes de l'arrangement et des rapports des différents éléments qui constituent la couche névro-épithéliale de la rétine du triton, il est nécessaire, pour avoir une connaissance plus exacte de ces éléments eux-mêmes, de les étudier à l'état d'isolation complète.

Pour cela, on prend le second œil du triton qui, après avoir séjourné vingt-quatre heures dans l'acide osmique, a été divisé au niveau de son équateur et mis à macérer dans l'eau pendant deux ou trois jours; on enlève avec des ciseaux un petit fragment de la rétine et on le dissocie avec les aiguilles sur la lame de verre dans une goutte d'eau. On colore ensuite les éléments par le picrocarminate et on les conserve dans la glycérine.

Dans ces préparations, les bâtonnets et les cônes sont le plus souvent séparés de leurs cellules respectives et flottent librement, mais on en observe toujours un certain nombre qui sont restés en rapport avec leur corps cellulaire et qui représentent des cellules visuelles intactes. Ces cellules possèdent au-dessous de leur noyau un renflement basal, dont la surface d'implantation irrégulière semble indiquer qu'il a été détaché par arrachement.

Le segment externe des bâtonnets présente des stries longitudinales et des stries transversales. La striation transversale s'exagère dans certains bâtonnets jusqu'à leur donner un aspect feuilleté et amener même leur décompo-

[1] *Landolt*, Beitrag zur Anatomie der Retina vom Frosch, Salamander und Triton. (*Arch. f. micr. Anatomie*, t. VII, 1871, p. 81.)

sition en disques qui, se séparant les uns des autres, flottent librement dans le liquide de la préparation.

Les stries longitudinales sont souvent légèrement obliques. Hensen[1] les a considérées comme correspondant à des fibrilles superficielles, mais, ainsi que M. Schultze[2] l'a montré, en examinant des disques qui se présentent de champ, on n'y voit rien qui soit l'expression optique de fibres; leur contour est seulement formé par une série de festons convexes. Les stries longitudinales des bâtonnets correspondent donc à une simple cannelure de leur surface.



Fig. 552. — Cellule de soutènement (fibre de Müller) de la rétine du triton, isolée après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée. — *c*. bord cuticulaire formant la limitante externe: la portion comprise entre *c* et *b* correspond aux corps des cellules visuelles: la portion rétrécie au-dessous de *b* correspond au plexus basal; *p*, expansion membraneuse au niveau de la couche des cellules bipolaires: *c*, portion correspondant au plexus cérébral, à la couche des cellules multipolaires et à l'expansion du nerf optique: *i*. pied de la cellule de soutènement. correspondant à la limitante interne; *n*, noyau de la cellule.

Des massues de Landolt en plus ou moins grand nombre se montrent aussi complètement isolées, et parmi elles on en trouve toujours quelques-unes dont la tige se continue avec le prolongement périphérique d'une cellule bipolaire. Au point où ce prolongement traverse le plexus basal pour constituer la tige d'une massue, il présente des irrégularités de forme et émet des expansions latérales qui semblent concourir pour une part à la formation de ce plexus (voy. fig. 551). Ces irrégularités ne se montrent pas toujours à la même distance du noyau des cellules bipolaires.

On trouve encore dans ces préparations des cellules de soutènement (fibres de Müller). entièrement isolées ou restées en relation avec quelques-uns des éléments qui les entourent, ce qui permet d'étudier d'une manière complète leur forme et leurs rapports.

Au delà de leur base, constituant la couche limitante interne, elles s'amincissent et prennent la forme de fibres. Dans cette portion de leur trajet, elles sont munies d'expansions latérales filamenteuses ou membraniformes et correspondent à trois couches de la rétine : celle des fibres du nerf optique, celle des cellules multipolaires et celle du plexus cérébral. Elles s'élargissent ensuite d'une manière progressive et, dans un renflement protoplasmique marginal, contiennent un noyau ovalaire dont l'axe est parallèle au leur. A ce niveau, elles émettent dans toutes les directions un grand nombre de lames ou de crêtes limitant des fossettes dans lesquelles sont logées les cellules

1. *Hensen*. Ueber das Sehen in der Fovea centralis. (*Archives de Virchow*, t. XXXIX. 1867, p. 475.)

2. *M. Schultze*, Ueber die Nervenendigung, etc. (*Arch. f. micr. Anat.*, t. V. p. 379.)

unipolaires et bipolaires. Puis elles se rétrécissent brusquement au niveau du plexus basal, s'épanouissent ensuite et sont creusées de logettes dans lesquelles sont comprises les cellules visuelles (voy. fig. 552). Elles se terminent par un bord réfringent qui paraît être une formation cuticulaire. Ce bord correspond à la membrane limitante externe; aussi cette membrane doit-elle être considérée comme formée par l'ensemble des cuticules des cellules de soutènement.

Comme on vient de le voir, la rétine du triton contient des cellules visuelles et des cellules de soutènement d'une netteté remarquable. Mais les différentes espèces de cellules ganglionnaires n'y sont que faiblement différenciées; le protoplasma qui entoure leurs noyaux est en quantité très restreinte et les fibres qu'elles émettent sont tellement délicates qu'elles échappent presque toujours à l'observation. Aussi faut-il étudier ces cellules dans d'autres rétines où elles ont des caractères plus accusés. D'autre part, les cônes, les bâtonnets et les cellules dont ils sont une dépendance présentent dans la série des vertébrés une variété de formes qu'il est indispensable de connaître. C'est pour cela que nous allons examiner maintenant dans leur ordre successif les différentes couches de la rétine chez un certain nombre d'animaux, en choisissant surtout ceux où il existe quelques particularités importantes pouvant éclaircir les points encore obscurs de la structure de cette membrane.

Couche des bâtonnets et des cônes. — La dimension et la forme des bâtonnets varient beaucoup dans la série des vertébrés. Chez le triton, ils sont gros, courts, un peu plus larges à leur base qu'à leur sommet. Chez les mammifères, ils sont régulièrement cylindriques. Dans la rétine de la grenouille verte, on en trouve de deux espèces : les uns ont la forme d'un cylindre régulier, les autres, dont l'existence a été signalée d'abord par Schwalbe[1], sont reliés aux cellules visuelles qui les portent par un pédicule très mince et doivent être désignés sous le nom de bâtonnets en massue. Chez le brochet et la perche, tous les bâtonnets affectent cette dernière forme. Enfin, chez le gecko commun, à côté des bâtonnets cylindriques ordinaires, on en observe d'autres qui sont associés deux à deux comme les cônes jumeaux; ce sont les bâtonnets jumeaux (voy. fig. 555).

Rien n'est plus variable que le diamètre et la longueur des bâtonnets. Ils atteignent leur plus grande largeur chez les urodèles; chez les poissons osseux ils sont minces et longs; les plus grêles existent chez les mammifères, surtout chez les rongeurs.

Ces différents faits pourront être reconnus dans des coupes de la rétine fixée par les vapeurs ou par la solution d'acide osmique, ou bien dans des préparations obtenues par dissociation après l'action de ce réactif. On arrivera également à acquérir des notions sur la forme et la dimension des bâtonnets en les examinant entièrement frais dans de l'humeur du corps vitré. Les mêmes préparations conviennent pour apprécier la structure de ces éléments

1 *Schwalbe*, Die Retina, *Gräfe et Saemisch. Handbuch der Augenheilkunde.*

Dans les différentes classes de vertébrés, les bâtonnets sont composés de deux segments distincts que l'on désigne sous le nom de *segment externe* et de *segment interne*.

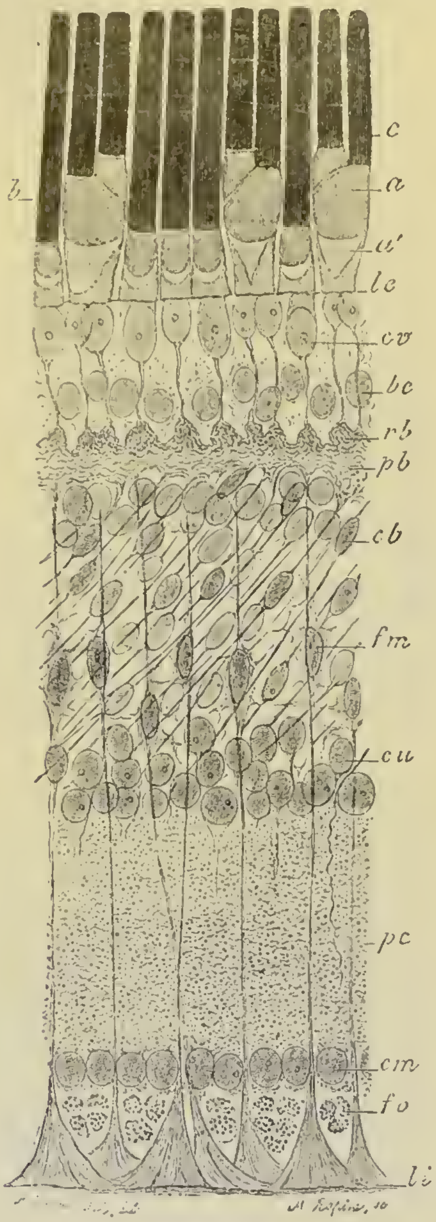


Fig. 353. — Rétine du gecko commun. Coupe faite après l'action successive des vapeurs d'acide osmique, de l'alcool au tiers et de la solution d'acide osmique. — *b*, segments externes des bâtonnets; *c*, segments externes des bâtonnets doubles; *a*, corps intercalaire; *a'*, corps accessoire; *le*, limitante externe; *cv*, corps des cellules visuelles; *bc*, cellules basales externes; *rb*, renflement basal; *pb*, plexus basal; *cb*, cellules bipolaires; *fm*, cellules de soutènement; *cu*, cellules unipolaires; *pc*, plexus cérébral; *cm*, cellules multipolaires; *fo*, fibres du nerf optique coupées en travers; *li*, limitante interne.

Sous l'influence de l'acide osmique, le segment externe se colore en noir plus ou moins foncé. La teinte qu'il prend après l'action de ce réactif est simplement grisâtre chez les mammifères et chez les poissons; chez les batraciens anoures et urodèles, il devient complètement noir, sauf au voisinage de son extrémité où il est coloré un peu plus faiblement.

Cette coloration est liée à la présence d'une substance qui est soluble dans l'alcool. En effet, si, après avoir durci une rétine dans l'alcool ordinaire, on y fait des coupes que l'on traite par l'alcool absolu et que l'on soumet à l'action de l'acide osmique après les avoir lavées dans l'eau, le segment externe des bâtonnets ne se colore plus [1].

Le segment externe des bâtonnets possède une striation transversale que l'on reconnaît déjà sur la rétine tout à fait fraîche au moment où l'on vient de faire la préparation, mais qui s'accuse davantage au bout d'un instant. Elle est également très bien marquée après l'action de l'acide osmique et s'accentue jusqu'à amener la décomposition en disques lorsque la rétine, après avoir été soumise à l'influence de ce réactif, est placée dans l'eau pendant un ou deux jours.

Quant à la striation longitudinale, que l'on voit si bien chez le triton crêté, elle est beaucoup moins distincte chez la grenouille; chez les animaux supérieurs, elle disparaît complètement.

Chez le gecko commun, les bâtonnets, qui ne possèdent pas de striation

1. La coloration noire que prennent sous l'influence de l'acide osmique les cellules adipeuses (voy. p. 285), les tubes nerveux à myéline (voy. p. 560), la couche cornée de l'épiderme

longitudinale proprement dite, présentent presque tous une ou deux stries longitudinales admirablement bien dessinées. Si, pour se rendre compte de la signification de ces stries, on examine à plat les disques résultant de la décomposition des bâtonnets après l'action de l'acide osmique et la macération dans l'eau, on voit que leur contour régulier est interrompu par une échancrure profonde qui pénètre jusqu'à leur centre. Les stries longitudinales que l'on observe dans le segment externe des bâtonnets du gecko correspondent donc bien à des sillons, et l'observation de ces bâtonnets et de leurs disques fera mieux comprendre les stries centrales, plus accusées que les autres, que l'on remarque dans les bâtonnets de la grenouille et du triton.

Ces stries centrales, que Hensen a considérées comme l'expression optique de canaux destinés à loger les fibres de Ritter[1], sont simplement des sillons plus profonds que les autres.

La limite du segment interne et du segment externe des bâtonnets est marquée par une ligne transversale très nette, au niveau de laquelle leur séparation se produit facilement. C'est le segment interne qui forme la portion amincie des bâtonnets en massue. Dans les autres bâtonnets, son diamètre est égal, voire même un peu supérieur, à celui du segment externe. Il ne se colore jamais en noir sous l'influence de l'acide osmique. Dans les coupes de la rétine, faites après l'action du liquide de Müller ou de l'alcool et traitées par le picrocarminate, il se montre coloré en rose, tandis que le segment externe a pris une teinte jaune. Sa structure, qui paraît simple chez les mammifères, est déjà plus complexe chez la grenouille, où l'on y remarque un corps ayant la forme d'une lentille plan-convexe dont la surface plane correspond à la base du segment externe. Ce corps, *corps intercalaire*, qui se colore vivement par le carmin, se retrouve chez le triton (fig. 550) et le gecko (fig. 555), où il est situé, comme chez la grenouille, à la limite du segment interne et du segment externe. Chez le triton, il est plan-concave. Chez le gecko, tout en étant plan-convexe, il a, surtout dans les bâtonnets doubles, une épaisseur considérable ; il est formé d'une partie centrale glomérulée qui, après l'action successive du liquide Müller et du picrocarminate, est fortement colorée en rouge, et d'une substance marginale moins colorée; après l'action de l'acide osmique, ces deux parties sont à peine distinctes.

(voy. p. 672) et les bâtonnets de la rétine, est due à la même cause : la réduction de cet acide par les matières grasses.

1. Dans les préparations de rétine faites sans addition d'aucun réactif, on voit bientôt les bâtonnets se gonfler, s'allonger et s'incurver en différents sens. Ces altérations, qui commencent toujours au voisinage de leur extrémité, dont la substance beaucoup plus altérable forme en se gonflant des masses arrondies plus ou moins volumineuses, sont beaucoup plus rapides lorsqu'on ajoute de l'eau à la préparation. Finalement, les bâtonnets sont décomposés en boules reliées les unes aux autres par des portions rétrécies, des sortes de filaments. Ce sont ces filaments, artificiellement produits, que Ritter croyait exister à l'état physiologique au centre des bâtonnets. Comme il est très facile d'observer dans les bâtonnets altérés des fibres analogues, leur existence fut admise par les histologistes; elles devinrent classiques, et chaque observateur chercha à les retrouver dans les préparations de la couche névro-épithéliale. C'est ainsi que Hensen arriva à les loger dans le prétendu canal central du segment externe.

Chez le triton et le gecko, on distingue, au-dessous du corps intercalaire, un autre corps, *corps accessoire*, dont les propriétés chimiques sont bien différentes. Il ne se colore pas ou presque pas par le picrocarminate et reste clair après l'action de l'acide osmique. Chez le triton, sa forme est globuleuse et, à l'état frais il paraît même complètement sphérique (voy. fig. 554). Chez le gecko, il est semi-lunaire. Les bâtonnets doubles n'en possèdent qu'un seul, logé dans le bâtonnet principal, mais beaucoup plus volumineux que celui des bâtonnets simples [1].

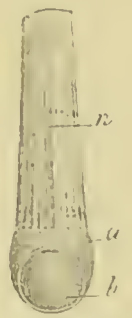


Fig. 554. — Bâtonnet du triton vu à l'état frais, isolé dans l'humeur du corps vitré. — *n*, segment externe où l'on distingue un sillon plus accusé que les autres; *a*, corps intercalaire; *b*, corps accessoire.

La forme et les dimensions des cônes varient suivant les espèces animales. On a vu que chez le triton il y en a de simples et de jumeaux. Il en est de même chez la plupart des batraciens, chez les oiseaux et chez les reptiles. Chez le brochet et chez la perche, où les cônes acquièrent des dimensions considérables, ils sont tous jumeaux, mais, au lieu qu'il y en ait un principal et un secondaire, ils sont semblables. Chez les mammifères, il ne paraît exister que des cônes simples.

Le segment externe des cônes, comme celui des bâtonnets, se colore sous l'influence de l'acide osmique et se décompose en disques transversaux.

Chez la grenouille, chez les reptiles et chez les oiseaux, on rencontre, entre le segment externe et le segment interne des cônes, des boules dont le diamètre est égal ou un peu supérieur à celui du segment externe, et qui sont constituées en majeure partie par de la graisse. Incolores chez la grenouille et chez quelques autres animaux, ces boules sont colorées chez la plupart des oiseaux et des reptiles en rouge rubis, en vert, en jaune et en bleu. Chez un même animal on trouve, à côté des boules colorées, des boules incolores. Sous l'influence de l'acide osmique, toutes ces boules se colorent en noir.

Le segment interne des cônes, qui est toujours plus large que le segment externe et qui est généralement renflé à son milieu, présente les mêmes réactions histochimiques que le segment interne des bâtonnets. Il contient également, chez le triton, comme on l'a vu page 756, un corps intercalaire et un corps accessoire. Du reste, si l'on envisage la série des vertébrés, ces deux corps paraissent beaucoup plus communs dans les cônes que dans les bâtonnets. On les observe chez les reptiles et chez les oiseaux, où dans les cônes doubles le cône principal a un corps intercalaire et un corps acces-

1. Ces corps ont été désignés par les auteurs qui les ont signalés, notamment M. Schultze et Krause, sous les noms de lentilles, corps lenticulaires, ellipsoïdes, etc. Hoffmann, qui en a fait une bonne étude, surtout dans les cônes des oiseaux et des reptiles (*Zur Anatomie der Retina. Niederländ. Arch. für Zoologie*, t. III, 1876), appelle corps lenticulaire celui que nous appelons corps intercalaire, et ellipsoïde celui que nous désignons sous le nom de corps accessoire. Les noms employés par ces différents auteurs étaient d'autant moins acceptables que chez le gecko, par exemple, le corps que Hoffmann désignerait sous le nom d'ellipsoïde a une forme semi-lunaire.

soire, et le cône secondaire un corps intercalaire seulement, ainsi que Hoffmann l'a reconnu (*loc. cit.*).

Chez l'homme et chez les singes, les cônes, qui sont toujours simples, n'ont pas de corps accessoire ; mais le corps intercalaire y est très développé. Il présente une structure spéciale, découverte par Schultze, et que l'on peut reconnaître aussi bien dans des coupes de la rétine que dans des dissociations de cette membrane faites après l'avoir traitée pendant un quart d'heure par une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Il paraît formé de fils convergeant vers le sommet du segment interne et légèrement obliques à son axe (fig. 555). Schultze l'a désigné sous le nom d'appareil de fils (*Fadenapparat*) ; il convient de l'appeler *corps intercalaire filamenteux*.



Fig. 555. — Rétine du singe (macaque). Coupe faite après l'action, sur la rétine isolée, d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 pendant un quart d'heure; *cl*, corps intercalaire filamenteux des cônes; *le*, membrane limitante externe; *nc*, noyaux des cônes; *nb*, noyaux des bâtonnets; *fh*, couche fibreuse de Henle; *pb*, plexus basal; *cb*, cellules bipolaires; *cu*, cellules unipolaires; *pc*, plexus cérébral; *cm*, cellules multipolaires; *no*, coupe transversale des fibres du nerf optique; *li*, couche limitante interne.

Il y a des animaux chez lesquels toutes les cellules visuelles se terminent par des cônes, les reptiles par exemple; d'autres où l'on a trouvé seulement des bâtonnets; d'après Schultze, ce seraient des animaux nocturnes. Il y en a qui possèdent des cônes volumineux, les poissons osseux, par exemple, et même les urodèles, bien que chez eux ils soient plus petits que les bâtonnets.

Parmi les batraciens anoures, le pélobate brun est remarquable par la petitesse des cônes de sa rétine (voy. fig. 558).

Enfin, chez l'homme et chez les singes qui ont une tache jaune, celle-ci est occupée seulement par des cônes, et à sa limite on voit s'y associer des bâtonnets qui au delà, dans le reste de la membrane, sont de beaucoup les plus nombreux.

Chez la plupart des mammifères, il est très facile d'apprécier le nombre relatif des cônes et des bâtonnets. Il suffit pour cela de détacher la rétine d'un œil tout à fait frais, ou peu d'heures après la mort, de la disposer sur une lame de verre, la face externe en haut, et de l'examiner sans lamelle recouvrante à un grossissement de 150 diamètres. Les bâtonnets apparaissent alors comme de petits cercles juxtaposés entre lesquels les cônes se montrent sous la forme de cercles beaucoup plus larges et un peu plus profonds, surmontés chacun d'un cercle plus petit, correspondant au segment externe vu de face.

En examinant dans ces conditions la tache jaune, on reconnaît, comme Henle l'a indiqué il y a déjà longtemps, la disparition progressive des bâtonnets à son niveau. Ces éléments sont remplacés par des cônes un peu plus

minces que les autres et dont l'ensemble dessine un guillochage élégant (M. Schultze).

Pour examiner de face la rétine des petits animaux, des batraciens, par exemple, on devra employer le procédé suivant : l'œil ayant été détaché, on y fera avec des ciseaux fins, au delà du bord de la cornée, une incision circulaire comprenant la sclérotique, la choroïde et la rétine, en ayant soin de recueillir sur une lame de verre l'humeur qui s'écoule. On y placera l'œil et, après avoir enlevé au moyen de la pince et des aiguilles la cornée, l'iris et le cristallin, on distinguera au milieu de la rétine la papille du nerf optique sous la forme d'une tache blanche. On divisera alors la partie postérieure de l'œil avec des ciseaux en quatre segments, en s'arrangeant de manière que la papille soit contenue dans le plus petit. Dans les trois autres segments, il sera facile de saisir la rétine et la choroïde avec une pince, de les soulever, de les détacher de la sclérotique, que l'on retiendra avec une aiguille et de les retourner sur la lame de verre. La choroïde s'enlève ensuite avec la pince comme un voile, et la rétine seule, sans que l'on y ait touché pour ainsi dire, se trouve convenablement étalée, la face externe en haut.

Dans ces conditions, la rétine de la grenouille, surtout si l'animal a été conservé auparavant dans l'obscurité pendant quelques heures, se montre d'un beau rouge ; mais bientôt, sous l'influence de la lumière, cette coloration pâlit, elle passe au jaune et disparaît complètement en ne laissant qu'un éclat de satin qui disparaît à son tour ; la membrane revêt finalement l'aspect blanchâtre et opaque qu'elle a chez le cadavre.

Si l'on examine cette rétine à un grossissement de 160 diamètres, immédiatement après l'avoir préparée, lorsqu'elle est encore rouge et sans la recouvrir d'une lamelle, on reconnaît que la plupart des bâtonnets sont colorés en rouge, tandis que quelques-uns sont verts. Sur les bords de la préparation, où l'on observe souvent des bâtonnets renversés ou détachés, on constate que leur segment externe seul est coloré.

Pour faire ces observations, il est nécessaire de se hâter, parce que, la rétine étant vivement éclairée par le miroir du microscope, la lumière fait bien vite perdre aux bâtonnets leur coloration. La teinte rouge et la teinte verte s'affaiblissent rapidement, et au bout de peu d'instants, en général au bout d'une minute, la préparation est incolore dans toutes ses parties [1].

1. Ces faits ont été découverts par Boll (*Zur Anat. u. Physiologie der Retina*. Monatsber. der Acad. zu Berlin, 1876, p. 785). Henri Müller avait, à la vérité, remarqué que chez les grenouilles les bâtonnets ont une teinte rouge (*Zur Histologie der Netzhaut*, *Zeitschr. f. wissensch. Zoologie*, t. III, p. 334, 1851) : mais il n'en comprit pas la signification, car il l'attribua à la diffusion de la matière colorante du sang (*Zeitschr. f. w. Zoologie*, t. VIII, et *H. Müller's hinterlassene Schriften*, t. I, p. 71).

Boll a également reconnu que la coloration des bâtonnets existe seulement dans leur segment externe, qu'elle n'est pas spéciale à la grenouille et qu'elle se montre aussi chez les mammifères et chez les poissons. Mais il n'a pas pu déterminer si le rouge rétinien était produit par une substance chimique spéciale ou si c'était un phénomène de diffraction résultant de l'arrangement régulier des disques qui composent les segments externes des bâtonnets.

Kühne (*Recherches du laboratoire de physiologie de Heildelberg*, 1877), reprenant la

Il y a des bâtonnets rouges rouges et des bâtonnets verts chez la grenouille verte (*R. esculenta*), la grenouille rousse (*R. temporaria*), le crapaud commun (*Bufo vulgaris*), le calamite (*Bufo calamita*), le pélobate brun (*Pelobates fuscus*), le triton crêté (*T. cristatus*), le triton marbré (*T. marmoratus*).

Il n'y a que des bâtonnets rouges chez la salamandre terrestre (*S. maculata*) et la salamandrine (*Salamandrina perspicillata*), chez lesquelles le rouge de la rétine a une intensité remarquable. Par contre, chez le gecko, même alors qu'on l'a laissé plusieurs jours dans l'obscurité, la rétine n'est que faiblement colorée. Au microscope, les segments externes des bâtonnets doubles aussi bien que des simples présentent une teinte rosée; il n'y a pas de bâtonnets verts.

Enfin, comme l'a indiqué Kühne, les segments externes des cônes ne con-

question, surtout au point de vue de l'histochimie, remarqua que le rouge rétinien ou *erythropsine*, après avoir disparu de la rétine séparée du corps, peut être régénéré dans l'obscurité. Il parvint à le dissoudre dans la bile purifiée et reconnut que dans cette solution il se décolore sous l'influence de la lumière et se régénère dans l'obscurité aussi bien que lorsqu'il est compris dans les bâtonnets.

Il put en outre réussir des optogrammes et en préciser la technique. C'est là une expérience extrêmement facile. Pour l'exécuter, on se procure une caisse en bois cubique de 25 centimètres de côté, dont on remplace l'une des faces par un papier huilé sur lequel on fixe des bandes de carton formant par leur ensemble un dessin régulier, celui d'une croisée par exemple, et dont on peint l'intérieur en noir mat. On porte cette boîte dans une chambre obscure où l'on s'éclaire avec une lampe à sodium. Dans cette chambre, on sacrifie un lapin, on lui enlève un œil que l'on fixe au fond de la caisse avec de la cire à modeler en regard de la paroi de papier huilé et en l'orientant de telle sorte que l'image de cette paroi puisse se faire sur la rétine. La caisse étant alors hermétiquement fermée, et un écran opaque recouvrant le papier huilé, on la porte à la lumière du jour, mais non au soleil, et, après l'avoir orientée de façon que sa paroi transparente soit vivement éclairée, on enlève l'écran.

Au bout de cinq ou six minutes, on replace l'écran, et la caisse est reportée dans la chambre éclairée par la lumière du sodium. L'œil y est ouvert avec soin un peu en avant de son équateur et plongé dans un cristallisoir où l'on a disposé préalablement 200 à 300 grammes d'une solution d'alun à 4 pour 100, et où l'on achève de détacher toute la moitié antérieure de l'œil avec le cristallin et le corps vitré. On conserve la partie postérieure de l'œil dans la solution d'alun et à l'obscurité complète.

Douze à vingt heures après, opérant encore dans la chambre éclairée par la lumière du sodium, on retire l'œil de la solution d'alun et on le met dan un baquet rempli d'eau au fond duquel on a placé une lame de plomb. Au moyen d'un petit emporte-pièce de 5 millimètres environ de diamètre, dont les lèvres doivent être mousses et que l'on applique sur la papille de la rétine reposant sur la lame de plomb, on sépare cette membrane de ses connexions avec le nerf optique, de telle sorte qu'il suffit ensuite de la saisir avec une pince au niveau de son bord pour l'isoler complètement. Passant ensuite au-dessous d'elle une petite bille de marbre blanc ayant environ le diamètre de l'œil de l'animal et fixée avec de la cire à cacheter blanche sur une lame de verre porte-objet, on la retire du liquide. Dans la lumière du sodium, elle paraît d'une coloration jaune uniforme, mais, si on la porte dans une chambre modérément éclairée par la lumière du jour, on y voit, imprimé nettement et réduit dans la proportion de toute image rétinienne, le dessin de la fenêtre que l'on avait ménagée sur une des parois de la caisse optographique. Ce dessin, dans lequel les parties obscures de la fenêtre sont réservées en rouge, tandis que les portions transparentes sont blanches, est d'abord parfaitement net, mais bientôt, si l'on continue d'examiner l'optogramme à la lumière du jour, la couleur rouge disparaît et le dessin s'efface peu à peu.

L'optographie n'a pas d'autre importance scientifique que de montrer d'une façon saisissante les propriétés remarquables du rouge rétinien, propriétés que l'on peut du reste mettre en évidence par des expériences beaucoup plus simples, par exemple celle qui est indiquée dans le texte courant de cet ouvrage.

tiennent pas de rouge rétinien. Chez les animaux qui ne possèdent pas de bâtonnets, les reptiles par exemple, la rétine n'a pas d'autre coloration que celle qui lui est fournie par les boules colorées des cônes. D'après les auteurs, la tache jaune de l'homme et du singe ne contiendrait pas d'érythropsine; j'ai pu me convaincre moi-même que la tache jaune du singe en est dépourvue.

Ce sont là des faits très intéressants qui montrent qu'il y a entre les segments externes des cônes et ceux des bâtonnets une différence importante, et qui établissent que la vision la plus distincte, celle qui se produit chez nous seulement au niveau de la tache jaune, peut s'effectuer sans le concours de l'érythropsine. On ne sait rien du reste sur le rôle physiologique de cette substance.

Les prolongements protoplasmiques des cellules de l'épithélium pigmenté de la rétine pénètrent entre les cônes et les bâtonnets et se poursuivent jusqu'à la membrane limitante externe, ainsi qu'on peut le reconnaître facilement par l'examen de coupes verticales de la rétine et de la choroïde, faites après durcissement par l'alcool ou le liquide de Müller.

Dans ces coupes, les cellules de l'épithélium pigmenté se montrent toujours formées de deux parties : une externe ne contenant pas de granulations pigmentaires et limitée en dehors par un bord net qui, d'après Angelucci[1], correspondrait à une cuticule, et une interne chargée de grains de pigment colorés en noir, ayant la forme de petits cristaux allongés. Le noyau est toujours logé dans la partie non pigmentée de la cellule; à côté de lui, se voient des gouttes de graisse incolores ou colorées en jaune plus ou moins intense, suivant les animaux, et des granulations incolores faiblement réfringentes que Boll a désignées sous le nom de granulations aleuronoïdes[2].



Fig. 556. — Épithélium pigmenté de la rétine vu de face. — *p*, protoplasma chargé de granules pigmentaires; *n*, noyaux; *c*, ciment intercellulaire sans pigment; *a*, cellule contenant deux noyaux. — 555 diam.

Les cellules de l'épithélium pigmenté peuvent être facilement isolées après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée (voy. p. 755). Comme elles se montrent alors de face, de profil ou de trois quarts, on peut reconnaître sans difficulté que leurs prolongements sont filiformes et pressés les uns contre les autres. Dans le gazon touffu que constitue leur ensemble, sont ménagés de distance en distance des espaces circulaires qui étaient occupés par des bâtonnets.

Après que l'œil a séjourné longtemps dans le liquide de Müller, on peut facilement en isoler de grands lambeaux de l'épithélium rétinien, dans lesquels les cellules forment un pavé régulier et élégant (voy. fig. 556).

1. *Angelucci*, Ricerche istologiche sull' epitelio retinico dei vertebrati. (*Atti della R. Accad. dei Lincei*, 1877-1878.)

2. Voy. Angelucci, *loc. cit.*

Les cellules pigmentées de la rétine possèdent une propriété extrêmement curieuse, qui a été mise en évidence par les travaux de Boll[1], d'Angelucci et d'Ewald et Kühne[2]. Sous l'influence de la lumière, les grains de pigment s'avancent entre les bâtonnets jusqu'à la membrane limitante externe. Dans l'obscurité, ils se retirent vers le corps de la cellule.

Pour constater ce singulier phénomène, il suffit de prendre une grosse grenouille verte, de la placer pendant une heure environ dans un lieu obscur, de l'immobiliser ensuite par le curare et d'appliquer sur un de ses yeux deux ou trois doubles de taffetas d'Angleterre noir et bien épais, tandis que l'autre œil, qu'on laisse à découvert et dont on résèque les paupières,

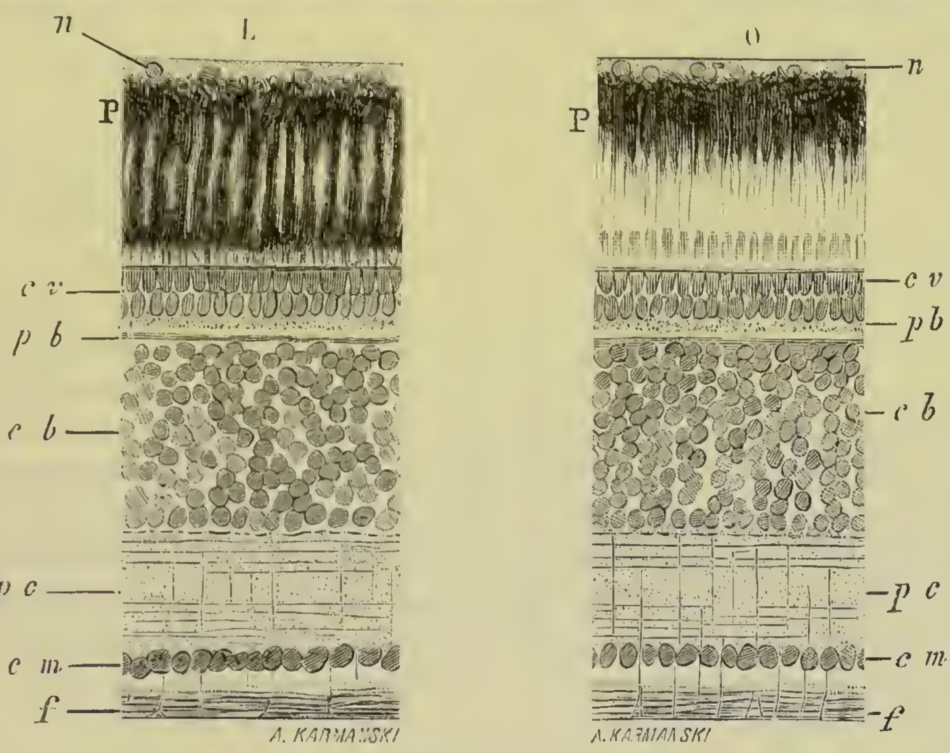


Fig. 557. — Coupes verticales des deux rétines d'une grenouille verte, faites après durcissement par l'alcool, colorées par le picrocarminate et conservées dans la glycérine La rétine L a été impressionnée par la lumière: la rétine O a été soumise à l'obscurité. P, cellules pigmentées de la rétine : *n*, leurs noyaux ; *cv*, cellules visuelles ; *pb*, plexus basal : *cb*, cellules bipolaires ; *pc*, plexus cérébral : *cm*, cellules multipolaires ; *f*, fibres du nerf optique.

est exposé directement au soleil. Au bout d'une heure, on enlève les yeux de l'animal et, avec des ciseaux fins et bien tranchants, on les divise au niveau de leur équateur, en ayant le plus grand soin de ne pas tirer sur la rétine, afin de lui conserver les rapports intimes qu'elle affecte avec la choroïde et l'épithélium rétinien. Les pôles postérieurs des yeux sont alors plongés dans l'alcool ordinaire. Au bout de deux heures, leur durcissement est suffisant pour qu'on puisse, après les avoir inclus dans le mélange de cire et d'huile, y faire des coupes, qui doivent être perpendiculaires à la surface de la rétine et passer par la papille. Traitées par l'eau, colorées par le picrocarminate et montées en préparation dans la glycérine, ces coupes donnent des résultats

1. *Boll*, voy. Angelucci, *loc. cit.*

2. *Ewald et Kühne*, Untersuchungen ueber den Sehpurpur, *Untersuch. des physiolog Instituts der Universitaet Heidelberg*, t. I, p. 421

tout à fait démonstratifs, si toutefois les diverses opérations ont été conduites avec un peu d'adresse.

Le pigment de la rétine qui a été exposée à la lumière s'avance jusqu'au voisinage de la membrane limitante externe, tandis que dans celle qui a été conservée à l'obscurité, il arrive à peine à la moitié de la hauteur des bâtonnets.

D'après Kühne[1], le pigment rétinien jouirait de la propriété de régénérer l'érythropsine.

Membrane limitante externe. — Pour bien voir la membrane limitante externe, il faut, après avoir dégagé la rétine, la soumettre pendant une demi-heure à une heure à l'action d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, en compléter le durcissement par l'alcool et y pratiquer des coupes exactement perpendiculaires à la surface, après l'avoir incluse dans un mélange de cire et d'huile de consistance molle.

Chez tous les vertébrés, cette membrane apparaît comme une bordure mince à double contour, mais chez l'homme et chez le singe on en apprécie mieux les détails de structure, surtout à cause de la grosseur relative des cônes. A un grossissement de 300 à 400 diamètres, on y voit, sur les bords des cônes et des bâtonnets, une série de points brillants, qu'à un grossissement de 800 à 1000 diamètres on reconnaît comme correspondant à l'insertion de cils très fins qui sont appliqués à la surface des segments internes des cônes et des bâtonnets parallèlement à leur axe. Ces cils ont été découverts par Max Schultze, qui pensa d'abord qu'ils étaient de nature nerveuse, mais qui plus tard les considéra comme la dernière terminaison des fibres de Müller (cellules de soutènement de la rétine). Il décrivit l'ensemble qu'ils forment autour de chaque cône et de chaque bâtonnet sous le nom de panier de fils (Faserkorb). En réalité, ces cils, qui sont évidemment une dépendance de la membrane limitante, paraissent être, comme cette membrane, de nature cuticulaire.

Dans ces derniers temps, Hoffmann[2], ayant isolé après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée les cônes et les bâtonnets chez plusieurs animaux, a remarqué que du segment interne se dégageaient des filaments verticaux extrêmement grêles qui, s'appliquant sur le segment externe, se terminaient en pointe. Ces fils existent, mais il est encore difficile aujourd'hui d'en déterminer la signification.

Couche des corps des cellules visuelles. — Cette couche est d'autant plus épaisse que les cônes et les bâtonnets sont plus minces.

Chez les tritons, les noyaux des cellules visuelles sont disposés, comme on l'a vu, sur une seule rangée ; chez les batraciens anoures, ils forment deux rangées, ceux des cellules à cônes étant situés plus profondément que ceux des cellules à bâtonnets.

Chez les mammifères en général, les noyaux des cônes sont placés immé-

1. *Kühne*, Zur Photochemie der Netzhaut, *Sitzung des naturhistor-medicin. Vereins zu Heidelberg*, 5 janvier 1877.

2. *Hoffmann*, Zur Anatomie der Retina. Ueber den Bau der Retina der Amphibien und Reptilien. (*Niederländ. Arch. fur Zoologie*, t. III, 1876.)

diatement au-dessous de la limitante externe, tandis que les noyaux des bâtonnets forment au-dessous une série de rangées superposées. Ces derniers noyaux ont une structure singulière qui a été découverte par Henle. Ils sont séparés en deux ou trois segments par des bandes claires, moins réfringentes, généralement parallèles à la surface de la rétine. La rétine du chat, exposée en place (après qu'un segment étendu de la sclérotique a été enlevé) aux vapeurs d'acide osmique pendant cinq minutes, plongée ensuite pendant vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, puis pendant quelques heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 et enfin dans l'alcool, fournit des coupes dans lesquelles, après coloration par l'hématoxyline ou par la purpurine, tous les noyaux des bâtonnets montrent nettement leur composition segmentaire. Chacun des segments qui les composent est coloré, tandis que la substance qui leur est interposée est absolument incolore.

Comme dans la couche qui nous occupe, tous les noyaux présentent la même structure, on doit en conclure que chez le chat il ne s'y trouve pas d'autres cellules que des cellules visuelles. Ces cellules ayant leurs noyaux à des hauteurs différentes, il en résulte qu'elles ont tantôt un prolongement périphérique court et un prolongement central long, tantôt un prolongement périphérique long et un prolongement central court, et qu'il existe aussi tous les intermédiaires. En cela, elles sont comparables aux cellules olfactives.

Chez les mammifères qui ont des cônes très développés, par exemple l'homme et les singes, on constate facilement, en examinant des coupes minces de la rétine, faites après l'action de l'acide osmique, ou les éléments de cette membrane, isolés après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée, que les cellules à cônes, dont les noyaux sont appliqués immédiatement au-dessous de la membrane limitante externe, ont un prolongement périphérique presque réduit à zéro, si l'on en excepte le cône lui-même, et un prolongement central, relativement épais, qui se montre sous la forme d'une fibre striée en long, *fibre de cône*. Les cellules à bâtonnets, dont les noyaux sont plus profonds, ont un prolongement périphérique et un prolongement central distincts. Ces prolongements sont extrêmement grêles et n'ont guère que l'épaisseur d'une fibrille nerveuse. Ils sont désignés par les auteurs sous le nom de *fibres de bâtonnets*.

Dans les coupes passant par l'axe du nerf optique et par la *fovea centralis*, on voit les fibres de cônes et les fibres de bâtonnets réunies devenir de plus en plus obliques à mesure que l'on se rapproche de la tache jaune, celles qui sont comprises entre elle et le nerf optique d'avant en arrière et de dedans en dehors, et celles qui sont au delà de la tache d'avant en arrière et de dehors en dedans.

Ces fibres constituent immédiatement au-dessus du plexus basal une couche distincte relativement épaisse sans mélange d'aucun noyau. La couche formée par les corps des cellules visuelles semble ainsi composée de deux couches : une externe contenant les noyaux et les corps des cellules visuelles, une interne constituée entièrement par les prolongements centraux de ces cellules. Cette dernière couche, qui a été distinguée par

Henle et qui est souvent désignée sous le nom de couche fibreuse de Henle (voy. fig. 555), n'existe pas chez les autres animaux.

Cependant, chez le gecko commun, où les noyaux des cellules à bâtonnets simples et à bâtonnets doubles forment en dedans de la membrane limitante externe une seule rangée (voy. fig. 555), les prolongements centraux des cellules visuelles, dont la direction est perpendiculaire à la surface de la rétine, pourraient être considérés comme constituant une couche distincte. Mais cette couche n'est pas dépourvue de tout élément cellulaire; en effet, entre les prolongements des cellules sensorielles, on remarque un certain nombre de noyaux appartenant à des cellules qui ne sont pas de nature nerveuse. Ce sont des cellules basales qui, étant donnée leur situation, doivent être appelées *cellules basales externes*. On observe des cellules analogues chez d'autres animaux, le pélobate brun, par exemple (fig. 558).

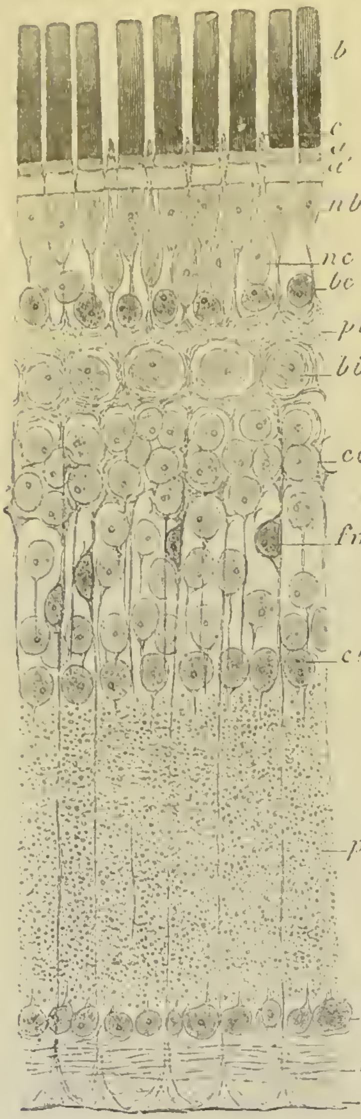


Fig. 558. — Rétine du pélobate brun. Coupe faite après l'action successive des vapeurs d'acide osmique, de l'alcool au tiers et de la solution d'acide osmique. — *b*, bâtonnets; *c*, cônes; *a*, corps intercalaire des bâtonnets; *a'*, segment interne des bâtonnets; *nb*, leurs noyaux; *nc*, noyaux des cônes; *be*, cellules basales externes; *pb*, plexus basal; *bi*, cellules basales interstitielles; *bc*, cellules bipolaires; *fm*, cellules de soutènement; *cu*, cellules unipolaires; *pc*, plexus cérébral; *cm*, cellules multipolaires; *no*, fibres du nerf optique; *li*, limitante interne.

Chez le gecko, les prolongements centraux des cellules visuelles, présentent encore une disposition remarquable. Avant d'atteindre le plexus basal, ils se renflent en une masse conique qui paraît formée de fibrilles emmêlées et dont la base se confond avec ce plexus.

Ce *renflement basal*, si accusé chez le gecko, se voit encore distinctement chez le triton. Il est beaucoup moins marqué chez les mammifères; cependant on le retrouve dans les cellules à cônes de l'homme et des quadrumanes.

En général, il se colore plus fortement par l'acide osmique que la cellule à laquelle il appartient et que le plexus basal lui-même.

Couche basale. — Comme on vient de le voir, il existe chez quelques animaux, notamment chez le gecko et le pélobate brun, des cellules du névro-épithélium non différenciées et situées en dehors du plexus basal. Ce sont des cellules basales externes. Mais le plus souvent c'est à la face interne du plexus basal qu'il existe des cellules de ce genre, par exemple

chez la perche et le brochet, ainsi que l'a observé H. Müller[1] il y a longtemps.

Chez ces animaux, les cellules *basales internes* forment deux couches distinctes qui se montrent très nettement dans les coupes de la rétine faites perpendiculairement à sa surface après durcissement par l'alcool, les solutions chromiques ou l'acide osmique. La plus interne de ces couches est formée de cellules relativement épaisses, l'autre de cellules minces.

Dans les préparations obtenues par dissociation après l'action successive de l'acide osmique et de l'eau distillée ou d'une solution d'acide chromique à 1 pour 10 000, ces cellules se montrent étoilées, anastomosées les unes avec les autres de manière à constituer un réseau élégant, comparable à celui que forment les cellules basales de l'épithélium olfactif (voy. p. 718).



Fig. 559. — Rétine du chat. Coupe faite après l'action successive des vapeurs d'acide osmique, de l'alcool au tiers et de l'acide osmique, et colorée par le picrocarminate. — *b*, bâtonnets; *le*, membrane limitante externe : *nb*, noyaux des bâtonnets; *pb*, plexus basal; *bi*, cellules basales internes; *cb*, cellules bipolaires; *cu*, cellules unipolaires; *pc*, plexus cérébral : *cm*, cellules multipolaires; *fo*, fibres du nerf optique; *li*, limitante interne.

Chez le chat, il y a également des cellules basales internes (fig. 559, *bi*), mais elles sont en une seule rangée, et, dans les coupes, elles paraissent assez écartées les unes des autres. En réalité, ainsi qu'on peut le constater en dissociant la rétine après qu'elle a macéré pendant vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers et en la colorant par le picrocarminate faible, ce sont des cellules élégantes, munies d'un très grand nombre de prolongements aplatis et ramifiés.

Chez le cheval, d'après Golgi et Manfredi[2], on isolerait des cellules analogues après avoir soumis la rétine à l'action de l'acide chromique dilué. Rivolta[3] avait déjà constaté l'existence de ces cellules, mais il les avait considérées comme des cellules ganglionnaires.

Enfin, chez le pélobate brun (fig. 558), outre les cellules basales externes, il y en a d'autres qui sont comprises dans l'épaisseur même du plexus basal et qui forment à peu près dans son milieu une couche régulière. Il convient de les désigner sous le nom de cellules *basales interstitielles*. Chez la grenouille, ce sont les cellules basales externes

1. *H. Müller*. Ueber sternförmige Zellen der Retina (*Verhandl. der physikalisch medic. Ges. zu Würzburg*, t. II, p. 216-218, réimprimé dans *Heinrich Müller's gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges*, I, Leipzig, 1872.)

2. *Golgi et Manfredi*, Annotazioni istologiche sulla retina del cavallo. (*Acad. di medicina di Torino*, 9 agosto 1872.)

3. *Rivolta*, Delle cellule multipolari che formano lo strato intergranuloso o intermedio nella retina del cavallo. (*Giornale di anat., fis. e patologia degli animali*, 1871, anno III, p. 185.)

qui dominent, mais on rencontre souvent aussi quelques cellules basales interstitielles.

Quant au plexus basal, chez tous les animaux, il paraît constitué par des fibrilles nerveuses entrelacées et dont la direction générale est parallèle ou légèrement oblique à la surface de la rétine.

Pour bien apprécier la structure fibrillaire du plexus basal, la meilleure méthode consiste à ouvrir l'œil avec soin, à en plonger le pôle postérieur dans l'alcool au tiers et à le porter ensuite dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, où on le maintient pendant une demi-heure à une heure. Après avoir complété le durcissement par l'alcool fort, on en fait des coupes perpendiculaires à la surface. Dans ces préparations, les cônes et les bâtonnets sont déformés, ce que l'on peut éviter en faisant agir tout d'abord pendant cinq ou six minutes les vapeurs d'acide osmique sur la face externe de la rétine à travers la choroïde, après avoir enlevé la sclérotique, si cette membrane est trop épaisse pour les laisser passer.

Couche des cellules bipolaires. — Cette couche est limitée en dehors par le plexus basal ou les cellules basales internes, quand elles existent, en dedans par une série d'arcades à concavité interne qui sont parfaitement nettes dans les coupes de la rétine traitée pendant une demi-heure par la solution d'acide osmique à 1 pour 100 et ensuite par l'alcool, coupes que l'on colore par le picrocarminate.

Les prolongements des cellules bipolaires sont extrêmement grêles. Chez presque tous les animaux ils sont l'un et l'autre perpendiculaires à la surface de la rétine. Mais il n'en est plus de même chez le caméléon (H. Müller) et chez le gecko. Chez ces animaux, ils sont obliques. De cette disposition il résulte que, notamment chez le gecko, la couche des cellules bipolaires se distingue de la couche des cellules unipolaires bien mieux encore que chez les autres animaux (voy. fig. 355).

Cette obliquité permet aussi d'éviter toute confusion entre les cellules bipolaires et les cellules de soutènement (fibres de Müller), dont les noyaux se trouvent compris dans la même couche, mais dont la direction est toujours perpendiculaire à la surface de la rétine.

Le prolongement périphérique des cellules bipolaires gagne le plexus basal directement ou après avoir traversé les mailles que laissent entre elles les cellules basales internes et, avant d'atteindre ce plexus, il se divise généralement de manière à donner deux ou un plus grand nombre de fibres qui pénètrent dans son intérieur et concourent à sa formation.

Leur prolongement central, dont la longueur est d'autant plus grande que le prolongement périphérique est plus court, traverse la couche des cellules unipolaires et pénètre au sein du plexus cérébral.

Couche des cellules unipolaires. — Les cellules unipolaires, disposées d'ordinaire sur deux ou trois rangées, sont presque toutes plus volumineuses que les cellules bipolaires. Leur noyau est généralement plus gros et leur nucléole plus marqué. Elles émettent un seul prolongement qui pénètre dans le plexus cérébral et paraît se diviser dans son intérieur.

Pour bien distinguer ce prolongement, il faut traiter la rétine à découvert par l'alcool au tiers pendant cinq minutes avant de la soumettre à l'action de l'acide osmique.

Cette méthode donne d'excellents résultats, parce qu'il s'est produit un certain gonflement des tissus et un léger écartement de leurs éléments au moment où l'acide osmique les atteint et les fixe.

Les coupes faites après l'action successive de l'alcool au tiers et de l'acide osmique permettent de reconnaître encore que les cellules unipolaires n'ont pas toutes les mêmes dimensions. Sous ce rapport, il y a entre elles de très grandes différences, auxquelles les noyaux participent. Chez l'homme notamment, on trouve à une faible distance de l'entrée du nerf optique des cellules unipolaires relativement volumineuses qui par leurs dimensions, la grosseur de leur noyau et de leur nucléole et la structure de leur substance cellulaire, rappellent tout à fait les cellules ganglionnaires situées vis-à-vis d'elles de l'autre côté du plexus cérébral.

Ces différences dans les dimensions de la masse cellulaire et des noyaux constituent un des caractères importants des cellules nerveuses, caractère que l'on trouve aussi bien dans les centres nerveux et dans les ganglions cérébro-spinaux que dans la couche des cellules multipolaires de la rétine, dont la nature nerveuse est démontrée par leurs rapports avec les fibres du nerf optique.

Ce caractère, que les cellules unipolaires possèdent également, contribue, avec la forme de leur noyau, le volume de leur nucléole et la ramification de leur prolongement dans le plexus cérébral, à prouver que ce sont bien des cellules nerveuses et non pas des cellules du névro-épithélium non différenciées ou destinées simplement, comme l'a supposé W. Müller[1], à sécréter la substance qui, d'après cet auteur, composerait en majeure partie ce qu'il appelle le neurospongе.

Plexus cérébral. — Le plexus cérébral des batraciens anoures, dans des coupes perpendiculaires à la surface de la rétine, faites après durcissement par n'importe laquelle des méthodes classiques, paraît formé d'une série de couches superposées, dont la limite est plus ou moins distincte. En général, il ne contient pas d'éléments cellulaires; cependant on y voit quelquefois des cellules unipolaires ou des cellules multipolaires engagées plus ou moins profondément dans son épaisseur.

Lorsque pour durcir la rétine on a employé l'alcool, le liquide de Müller ou une solution d'acide chromique, le plexus cérébral paraît constitué par une substance granuleuse traversée perpendiculairement à la surface par les cellules de soutènement (fibres de Müller). Mais si l'on traite successivement une rétine de grenouille pendant vingt-quatre heures par l'alcool au tiers et pendant quelques heures par une solution d'acide osmique à 1 pour 100, et qu'ensuite on complète le durcissement par l'alcool, le plexus cérébral subit des modifications qui permettent de mieux apprécier sa structure. La substance

1. W. *Müller*, Ueber die Stammesentwicklung des Sehorgans der Wirbelthiere. (*Beiträge zur Anat. u. Physiol. als Festgabe Carl Ludwig gewidmet.* Leipzig, 1875.)

granuleuse qu'il contient s'est gonflée, elle est devenue plus homogène, moins réfringente, et les fibres nerveuses comprises dans son épaisseur se montrent alors nettement dans les coupes faites perpendiculairement à la surface de la rétine. On peut y suivre beaucoup plus loin que dans les autres préparations le prolongement central des cellules bipolaires, le prolongement ramifié des cellules unipolaires, ainsi que les prolongements périphériques des cellules multipolaires, et on reconnaît que tous ces prolongements concourent à la formation d'un plexus ou plutôt d'une série de plexus parallèles à la surface, reliés entre eux par des fibrilles à direction verticale ou oblique.

Le gonflement qui se produit sous l'influence de l'alcool au tiers est toujours bien accusé dans la portion interne du plexus cérébral ; aussi est-ce dans cette portion que l'on peut le mieux reconnaître sa structure fibrillaire. La série de plexus superposés qui le constituent chez les batraciens explique l'apparence stratifiée qu'il présente chez ces animaux (voy. *pc*, fig. 557).

Quant à la substance interposée aux fibrilles, on ignore encore sa nature. Cependant la coloration foncée qu'elle prend sous l'influence de l'acide osmique semble indiquer qu'il entre dans sa constitution une certaine quantité de matière grasse ; c'est vraisemblablement une substance myélinique.

Lorsque l'on traite la rétine de n'importe quel vertébré par le chlorure d'or, en suivant un des procédés indiqués pages 650 et 620, on obtient des préparations dans lesquelles on peut reconnaître facilement les différentes couches de la rétine. Mais en général les fibres nerveuses à direction radiée n'y sont pas colorées d'une manière suffisante pour qu'on puisse les suivre dans tout leur parcours. Quatre couches de la rétine présentent une coloration plus marquée que les autres : les cônes et les bâtonnets, le plexus basal, le plexus cérébral et les fibres du nerf optique.

Couche des cellules multipolaires. — Il est facile d'isoler les cellules multipolaires chez les mammifères, chez le chien en particulier, où elles présentent des dimensions relativement considérables. Après avoir placé la rétine de cet animal pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans l'alcool au tiers, il suffit de l'agiter sur une lame de verre dans une goutte d'eau, en suivant les indications qui ont été données page 65, et d'ajouter ensuite une goutte de picrocarminate pour observer dans de bonnes conditions un nombre relativement considérable de cellules multipolaires. Elles sont globuleuses et montrent un prolongement central non ramifié, présentant tous les caractères d'un prolongement cylindraxile ou de Deiters, et des prolongements périphériques ramifiés. Elles contiennent un noyau limité par un double contour et possédant un nucléole volumineux. Elles n'ont pas toutes les mêmes dimensions, et la grosseur de leur noyau varie également ; il y a un rapport à peu près constant entre la grandeur du noyau et celle de la cellule.

Dans les coupes de la rétine du chien durcie par le liquide de Müller, que l'on colore au moyen du carmin et que l'on monte ensuite dans le baume du Canada ou la résine dammare après les avoir déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de girofle, les cellules multipolaires, bien que souvent elles aient perdu leur forme globuleuse et qu'elles soient plus ou moins

ratatinées, montrent assez nettement et leur prolongement central et leurs prolongements périphériques, que l'on suit plus ou moins loin dans l'intérieur du plexus cérébral.

On peut voir, au moyen de cette méthode et encore mieux dans des coupes faites après l'action successive de l'alcool au tiers et de l'acide osmique, non seulement chez le chien et chez les principaux mammifères, mais également chez la grenouille verte, quelques prolongements périphériques traverser tout le plexus cérébral et arriver jusque dans la couche des cellules unipolaires et même dans celle des cellules bipolaires. Le plus souvent cependant ces prolongements participent à la formation du plexus cérébral et paraissent se perdre dans son intérieur.

Couche des fibres du nerf optique. — Dans les coupes de la rétine, faites perpendiculairement à sa surface et passant par le centre de la papille, on constate sans difficulté que, chez les différents vertébrés, la couche des fibres du nerf optique diminue progressivement d'épaisseur du centre à la périphérie.

En général, chez les mammifères, les fibres nerveuses qui composent cette couche ne possèdent pas de myéline. Chez le lapin cependant, un certain nombre de fibres du nerf optique conservent leur gaine médullaire au delà de la papille, de chaque côté de laquelle elles se disposent en forme de gerbe.

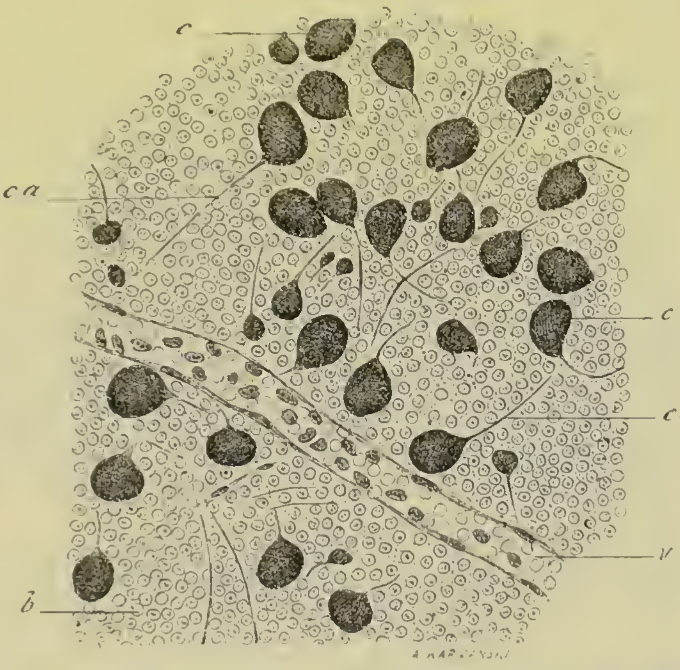


Fig. 360. — Rétine du chien, ayant séjourné vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, traitée par le pinceau et colorée par l'hématoxyline vieille. — *c* et *c'*, cellules nerveuses multipolaires de différentes dimensions : *ca*, prolongement cylindraxile de ces cellules ; *v*, vaisseau sanguin ; *b*, noyaux des cellules bipolaires.

Si l'on place la rétine du lapin sur une lame de verre, la face interne en haut, et qu'on y verse quelques gouttes d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100, les deux gerbes de fibres à myéline se colorent bientôt en brun, puis en noir. En examinant la rétine au microscope après l'avoir lavée, on voit les fibres à myéline, qui ne présentent pas d'étranglements annulaires et qui ne se divisent pas, former des faisceaux aplatis et divergents. Ces fibres perdent successivement leur gaine médullaire avant de se terminer.

Lorsque l'on dissocie la rétine, après l'avoir soumise successivement à l'action de l'acide osmique et de l'eau distillée, on obtient des faisceaux nerveux isolés ou associés en petit nombre.

Il est rare que, dans les coupes de la rétine, faites perpendiculairement à sa surface, on réussisse à voir une fibre du nerf optique se continuer avec le prolongement central d'une cellule multipolaire. Pour observer facilement leurs rapports, il convient d'avoir recours à la méthode suivante :

La rétine du chien, du chat, du lapin, etc., après avoir été conservée dans l'alcool au tiers pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures, est portée dans de l'eau distillée. Bientôt elle s'y gonfle et s'enroule sur elle-même sur sa face interne, ce qui indique que le gonflement des couches externes est le plus considérable. Peu de temps après, ces couches se ramollissent à tel point qu'on peut facilement les enlever avec un pinceau ou même en agitant simplement dans l'eau des fragments de la membrane. Celle-ci perd alors sa tendance à l'enroulement; on l'étale sur une lame de verre et on y ajoute deux ou trois gouttes de la solution d'hématoxyline vieille (voy. page 91).

En la regardant au microscope à un grossissement de 150 diamètres et sans la recouvrir d'une lamelle, on voit les cellules multipolaires se colorer en violet. Cette coloration devient de plus en plus foncée et dessine nettement les prolongements cylindraxiles. On remarque alors que ces prolongements, tout en étant compris dans un plan à peu près parallèle à la surface de la rétine, ont une orientation extrêmement variée (voy. fig. 560). Quelquefois ceux de deux cellules voisines se dirigent presque en sens inverse. On conçoit que dans ces conditions, quelle que soit la direction que l'on donne à la coupe, il doit arriver bien rarement qu'elle comprenne à la fois la cellule, son prolongement central et la fibre du nerf optique qui lui correspond. Dans la rétine examinée à plat et colorée par l'hématoxyline, il est au contraire très facile de reconnaître que les prolongements cylindraxiles des cellules multipolaires se continuent avec les fibres du nerf optique : comme on ne voit pas ces fibres se terminer autrement, on est en droit de conclure qu'elles aboutissent toutes à des cellules ganglionnaires.

Limitante interne et cellules de soutènement. — Lorsqu'on a traité une rétine de vertébré successivement par l'alcool au tiers, l'acide osmique et l'alcool, et qu'on l'examine sur des coupes, les pieds des cellules de soutènement (voy. p. 758) se montrent généralement disjoints; quelquefois même ils sont déplacés et occupent des hauteurs différentes. Ce fait, qui se produit aussi lorsque la rétine a été durcie par le liquide de Müller, suffirait à prouver que, comme l'a soutenu Schultze, il n'existe pas de membrane limitante proprement dite, la couche limitante étant formée uniquement par les pieds des cellules de soutènement.

Si, comme l'a indiqué Schelske[1], il y a longtemps déjà, on imprègne la surface de la rétine avec une solution de nitrate d'argent à 3 pour 1000, après avoir soigneusement enlevé le corps vitré et la membrane hyaloïde, et qu'on la dispose à plat sur une lame de verre, la face interne en haut, on y observe un pavé de champs polygonaux séparés par des lignes noires. Ces champs, qui chez les mammifères sont inégaux, sont formés par les pieds

1. *R. Schelske*, Ueber die Membrana limitans der menschlichen Netzhaut. (*Archives de Virchow*, 1863, t. XXVIII, p. 482.)

des cellules de soutènement soudés les uns aux autres par un ciment semblable à celui des endothéliums et de la plupart des épithéliums. Les plus petits de ces champs ne correspondent pas à des cellules de soutènement moins grandes que les autres, ainsi qu'on pouvait le croire *a priori*, mais à des pieds secondaires que présentent ces cellules. En effet, si on les isole après avoir fait macérer la rétine pendant vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, on peut constater que la plupart d'entre elles se bifurquent au-dessous de leur noyau pour donner une branche principale qui continue l'axe de la cellule et une branche accessoire qui s'en écarte légèrement. Chacune de ces branches est terminée par un pied distinct d'inégale largeur. Ce pied, légèrement excavé à sa base, est formé d'une substance centrale granuleuse qui se colore en rose par le carmin et d'une écorce plus résistante, vaguement striée en long et qui reste généralement incolore à la suite de l'application de ce réactif.

Après l'action de l'alcool au tiers, les expansions latérales des cellules de soutènement, qui sont très délicates, sont brisées ou plus ou moins revenues sur elles-mêmes. Leur noyau paraît contenu dans un amas protoplasmique granuleux qui fait sur leur côté une saillie notable. Leur extrémité périphérique qui correspond à la couche des cellules visuelles n'est jamais complètement conservée. Il n'y en a plus que quelques débris, et le plus souvent il n'en reste aucun vestige.

Les cellules de soutènement sont tellement délicates que pour les obtenir isolées dans leur intégrité il est nécessaire de les avoir d'abord fixées par l'acide osmique. Il est peu d'animaux chez lesquels cette méthode donne d'aussi bons résultats que chez le triton (voy. fig. 352), ce qui tient surtout à ce que les expansions latérales des cellules du soutènement y sont plus épaisses et moins compliquées.

Quelques auteurs, à l'exemple de Henle, ont considéré comme limitante interne la membrane hyaloïde ; mais cette membrane n'appartient pas à la rétine. Elle limite le corps vitré.

Vaisseaux de la rétine. — Dans la rétine des mammifères, les capillaires sanguins forment deux réseaux superposés et en communication l'un avec l'autre : le réseau interne se trouve dans la couche des fibres du nerf optique et dans la couche des cellules multipolaires ; le réseau externe, dans la couche des cellules unipolaires et dans celle des bipolaires. Les mailles de ces réseaux sont arrondies et les branches capillaires qui les limitent forment des anses. Quelques-unes des anses du réseau externe atteignent le plexus basal, mais jamais elles ne s'élèvent dans son intérieur.

Ces faits se reconnaissent avec la plus grande facilité chez le chien, le chat, le rat, etc., aussi bien dans la rétine tout entière injectée et conservée à plat que dans les coupes de cette membrane faites perpendiculairement à sa surface. Chez le lapin, la région occupée par les gerbes de fibres à myéline contient seule des vaisseaux sanguins.

On isole sans difficulté les artérioles, les veinules et les capillaires de la rétine, lorsqu'elle a macéré vingt-quatre ou quarante-huit heures dans

l'alcool au tiers, et l'on peut constater chez les mammifères, chez le chat, le chien, aussi bien que chez l'homme, que les vaisseaux sont entourés d'une gaine périvasculaire analogue à celle qu'ils possèdent dans les centres nerveux.

Nerf optique. — Le nerf optique diffère des troncs nerveux ordinaires par des caractères d'une très grande importance. Il est entièrement formé de fibres à myéline, qui ne montrent pas d'étranglements annulaires et par conséquent ne possèdent pas de gaine de Schwann. Pour constater ce fait, il faut dissocier le nerf, après qu'il a été soumis tout entier à l'action de l'acide osmique, s'il a un faible diamètre, comme chez la grenouille ou chez les batraciens en général, ou bien après y avoir pratiqué à l'aide d'une seringue hypodermique une injection interstitielle de ce même réactif. Ce dernier procédé est celui qui donne les meilleurs résultats, bien que la dissociation soit encore difficile et qu'elle ne fournisse que des segments de tubes nerveux d'une faible longueur. Ce qui entrave la dissociation, c'est la présence, entre les tubes nerveux, d'un nombre considérable de fibres connectives fines entre-croisées dans tous les sens, mais dont la direction générale est transversale. C'est là encore un caractère par lequel le nerf optique diffère des nerfs ordinaires, dont les fibres du tissu conjonctif intra-fasciculaire sont presque toutes parallèles aux tubes nerveux.

Pour bien observer ce fait, il faut, après avoir déterminé le durcissement du nerf optique de l'homme, du chien, etc., au moyen du liquide de Müller ou du bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, y pratiquer des coupes longitudinales qui doivent être extrêmement minces et que l'on monte dans le baume du Canada ou la résine dammare, après les avoir colorées successivement par le picrocarminate d'ammoniaque et l'hématoxyline vieille. Dans ces dernières préparations, lorsque l'application des deux matières colorantes a bien réussi, on voit les fibrilles intrafasciculaires colorées en bleu, tandis que les cylindres-axes sont colorés en rouge. Dans les coupes transversales du nerf optique, faites suivant la même méthode, on constate que les tubes nerveux qui composent ce nerf sont de diamètres très différents. Cette différence existe aussi bien chez les animaux dont la rétine ne contient que des cônes, comme le lézard, que chez ceux qui possèdent à la fois des cônes et des bâtonnets, ce qui tend à prouver qu'au même niveau un nerf qui a une seule fonction peut avoir des fibres nerveuses de diamètres très inégaux.

En comparant les coupes longitudinales aux transversales, on reconnaît que le nerf optique constitue un seul faisceau nerveux et qu'il est cloisonné par des travées connectives s'anastomosant les unes avec les autres, de manière à former un système alvéolaire. Les plus minces de ces travées, qui sont constituées par des fibres connectives semblables à celles qui cheminent entre les tubes nerveux, contiennent des cellules de la névroglie, souvent disposées en série longitudinale. On trouve des cellules semblables, mais en plus petit nombre, entre les tubes nerveux. (Voy., plus loin, l'article consacré à la névroglie).

Quant aux enveloppes périphériques du nerf optique, la plus externe, qui

se continue avec la dure-mère, est épaisse, formée de faisceaux connectifs entre-croisés, et, au-dessous d'elle, se trouve une cavité qui correspond à la grande cavité arachnoïdienne, fait qui n'avait pas échappé à Bichat et sur lequel Axel Key et G. Retzius ont insisté dans ces derniers temps. Au-dessous de cette cavité, se rencontre une seconde membrane qui correspond à l'arachnoïde et qui recouvre un espace cloisonné en continuité avec le tissu cellulaire sous-arachnoïdien. Puis vient la pie-mère proprement dite, de la face profonde de laquelle partent les cloisons indiquées plus haut.

Toutes les fibres nerveuses du nerf optique semblent se terminer aux cellules multipolaires, ou du moins elles se confondent avec les prolongements cylindraxiles de ces cellules. Se poursuivent-elles dans leurs prolongements périphériques? C'est probable, mais non démontré. Les prolongements protoplasmiques ou périphériques des cellules multipolaires et les prolongements des cellules unipolaires concourent à la formation du plexus cérébral. De ce plexus, se dégagent des fibres nerveuses qui, confondues avec les prolongements centraux et périphériques des cellules bipolaires, se perdent dans un second plexus, le plexus basal, ou bien traversent directement ce plexus, comme il arrive chez les tritons, pour se terminer entre les cellules visuelles par des renflements en massue.

C'est donc seulement après s'être mise en rapport avec des cellules nerveuses d'au moins trois espèces, les multipolaires, les unipolaires et les bipolaires, qu'une fibrille du nerf optique arrive à une cellule à cône ou à une cellule à bâtonnet. Mais on ne sait pas comment elle s'y termine. Se fond-elle avec la substance de la cellule elle-même, ou a-t-elle dans son intérieur une ou plusieurs extrémités libres? c'est ce qu'il est impossible de dire aujourd'hui.

La constitution fibrillaire du prolongement central des grosses cellules à cône de l'homme et des quadrumanes ferait supposer que plusieurs fibrilles nerveuses peuvent se mettre en rapport avec une seule cellule visuelle. C'est à ceux qui s'occupent d'une façon spéciale d'optique physiologique qu'il appartient de déterminer quelle importance peut avoir ce fait pour l'explication de certains phénomènes de la vision.

Il est impossible de se rendre compte du rôle des différentes cellules ganglionnaires qui sont annexées au nerf optique dans l'intérieur de la rétine. Il est probable qu'il n'est pas exactement le même pour toutes, et il n'est guère possible de faire même une hypothèse sur celui des cellules bipolaires. Mais on peut supposer que les multipolaires et les unipolaires ont une action commune qui se transmet au sein du plexus cérébral. *On peut concevoir, en effet, qu'elles agissent en modérant l'excitation produite sur le nerf optique par les cellules visuelles soumises à l'influence de la lumière, de manière à la maintenir dans les limites nécessaires à une bonne perception cérébrale.*

Cette manière de voir est fondée sur l'analogie que l'on peut établir entre les cellules ganglionnaires de la rétine et celles qui composent les ganglions spinaux annexés aux racines sensitives. On sait que l'excitabilité de ces racines est plus grande que celle des nerfs mixtes au-dessous des ganglions.

LABYRINTHE MEMBRANEUX ET TERMINAISON DU NERF AUDITIF

Le labyrinthe membraneux, comme la rétine, se développe aux dépens d'une vésicule, la vésicule auditive, qui apparaît vers le troisième jour de l'incubation chez le poulet. Mais tandis que la vésicule oculaire primitive (voy. la note de la p. 735) est tout entière d'origine cérébrale, la vésicule auditive, ainsi qu'il ressort des recherches de Huschke et de Remak, se forme par une invagination de l'ectoderme.

Il y a des animaux chez lesquels l'appareil de l'audition reste constitué par une vésicule sphérique, contenant une otolithe et dont certaines cellules différenciées reçoivent des fibres du nerf auditif. Ces cellules, qui sont munies de cils, sont des cellules sensorielles. Mais déjà chez les mollusques céphalopodes la vésicule auditive, dans la suite du développement, émet des bourgeons, et chez les vertébrés elle se complique de plus en plus pour arriver à prendre la forme si complexe du labyrinthe des mammifères. Elle est alors formée de différentes parties ou départements ayant chacun son organisation propre et qui sont connus sous les noms de : 1° canaux demi-circulaires; 2° utricule; 3° saccule; 4° aqueduc du vestibule; 5° canal cochléaire.

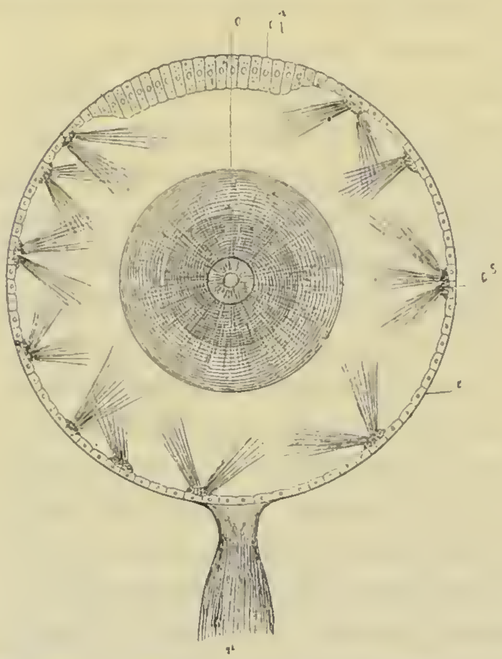


Fig. 361. — Organe auditif de *Pterotrachea coronata*, examiné frais. Dessin emprunté à Fr. Boll. — *n*, nerf auditif; *e*, épithélium non différencié; *cs*, cellules ciliées; *ep*, épithélium cylindrique correspondant à l'épithélium pigmenté du canal cochléaire; *o*, otolithe.

Aujourd'hui on est complètement arrivé à saisir les relations de ces divers départements de la vésicule auditive. On a été guidé pour cela par la connaissance du labyrinthe des poissons, qui est beaucoup plus simple, et dont les différentes parties, communiquant largement les unes avec les autres, peuvent être facilement reconnues comme autant de dépendances de la vésicule auditive primitive. On retrouve chez les poissons, aussi bien chez les poissons osseux que chez les poissons cartilagineux, les canaux demi-circulaires, l'utricule, le saccule et l'aqueduc du vestibule, mais le canal cochléaire est remplacé par un simple cul-de-sac du saccule, la cysticule.

On avait bien observé chez les embryons de mammifères des phases du développement de l'oreille correspondant au labyrinthe des poissons; cependant ce n'est que peu à peu que l'on est arrivé à reconnaître que chez l'adulte tous les départements du labyrinthe communiquent ensemble et quelles sont, dans le limaçon, les parties qui correspondent à la vésicule auditive. Pour cela, la découverte de Reissner (1854) a eu une influence décisive.

Chez l'adulte, le squelette du limaçon limite un cône creux enroulé en spirale autour d'un axe (noyau du limaçon). Ce cône est divisé incomplètement suivant sa longueur par une lame osseuse, une sorte de crête, implantée par une large base sur le noyau du limaçon. C'est la lame spirale osseuse. La lame spirale osseuse divise la cavité du limaçon en deux rampes, la rampe

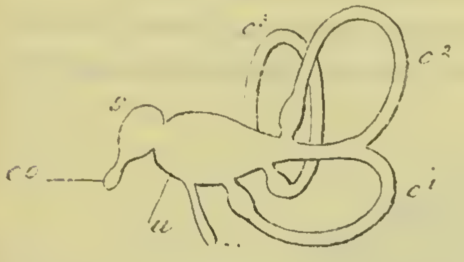


Fig. 562. — Schéma du labyrinthe membraneux des poissons, d'après Waldeyer. — *u*, utricule ; *s*, saccule ; *co*, cysticule correspondant au canal cochléaire ; c^1, c^2, c^3, les trois canaux demi-circulaires ; *v*, aqueduc du vestibule.

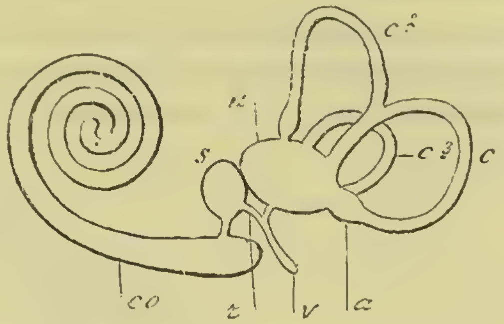


Fig. 563. — Schéma du labyrinthe membraneux des mammifères. — *u*, utricule ; *s*, saccule ; *co*, canal cochléaire ; c^1, c^2, c^3, canaux demi-circulaires ; *a*, ampoule ; *v*, aqueduc du vestibule ; *r*, canal de réunion.

vestibulaire et la rampe tympanique. La rampe tympanique, celle qui regarde la base du limaçon, arrive à la caisse du tympan par la fenêtre ronde. La rampe vestibulaire s'ouvre dans le vestibule, de là son nom. Au sommet du limaçon (coupole) la lame spirale osseuse se termine par une sorte de crochet (hamulus).

La lame spirale osseuse ne forme qu'une cloison incomplète, mais à son bord libre s'attache une membrane fibreuse, *membrane basilaire*, qui se poursuit jusqu'à la paroi opposée et sépare les deux rampes qui communiquent cependant sous la coupole au delà du crochet terminal. C'est sur la face vestibulaire de la membrane basilaire que se trouve l'organe admirable découvert par Corti et qui porte son nom. Corti a fait la découverte de cet organe en détachant la lame spirale et la membrane basilaire qui lui fait suite et en les examinant à plat, aussi s'est-il mépris sur les rapports et la signification des parties qu'il avait sous les yeux. Néanmoins son travail[1] a été le point de départ de toutes les recherches qui ont fait de l'oreille interne un des organes les mieux connus. Il fallait y pratiquer des coupes. Cette méthode a conduit Reissner[2] à la découverte de la membrane qui porte son nom et à la conception du canal cochléaire, canal limité par la membrane basilaire, la membrane de Reissner et la lame des contours de limaçon.

Dans une coupe passant par l'axe du limaçon (voy. fig. 564), le canal cochléaire a la forme d'un triangle. Le sommet de ce triangle regarde l'axe du limaçon, sa base correspond à la lame des contours.

Des trois cavités que l'on observe dans le limaçon, le canal cochléaire seul

1. A. *Corti*, Recherches sur l'organe de l'ouïe des mammifères. (*Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, t. III, 1851, p. 109.)

2. E. *Reissner*, Zur Kenntniss der Schnecke im Gehörorg. der Saügethiere und des Menschen. (*Müller's Archiv*, 1854, p. 420.

fait partie du labyrinthe membraneux ; seul il est tapissé à sa face interne d'un épithélium véritable ; seul il est une dépendance ou un département de la vésicule auditive. Il communique avec la saccule par un canal découvert par Hensen en 1863, *canal de réunion*, et se termine sous la coupole du limaçon par un cul-de-sac qui repose sur la concavité du crochet terminal de la lame spirale.

Étant ainsi établi que le canal cochléaire fait partie de la vésicule auditive aussi bien que le saccule, l'utricule et les canaux demi-circulaires, il reste à faire remarquer que ces diverses cavités sont tapissées d'un épithélium formé

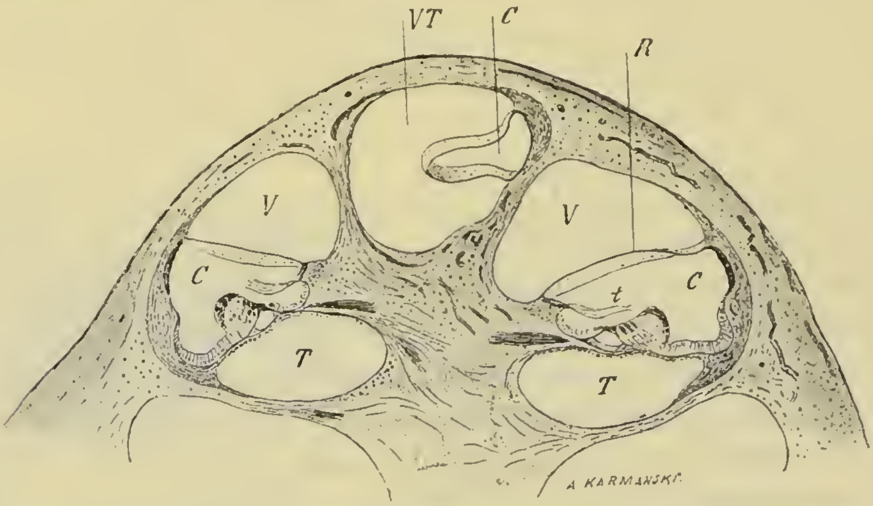


Fig. 564. — Coupe parallèle à l'axe du limaçon du cochon d'Inde, faite après l'action du chlorure d'or et de l'acide formique et la décalcification par l'acide picrique. On a dessiné seulement le dernier tour de spire pour montrer la terminaison du canal cochléaire et la fusion des deux rampes. Ce n'est pas une figure schématique : le dessin, fait à la chambre claire, reproduit exactement la préparation. — *V*, rampe vestibulaire ; *T*, rampe tympanique ; *VT*, les deux rampes confondues ; *C*, canal cochléaire ; *R*, membrane de Reissner ; *t*, tectoria ou membrane de Corti.

de cellules cylindriques plus ou moins hautes, et que, partout où elle est atteinte par les ramifications du nerf auditif, cette couche épithéliale se modifie et prend les caractères d'un épithélium sensoriel. C'est ainsi que se forment l'organe de Corti dans le canal cochléaire, les crêtes acoustiques des ampoules des canaux demi-circulaires et les macules de l'utricule et du saccule.

Ces notions préliminaires étaient indispensables, avant d'exposer les méthodes qui conduisent à une bonne observation histologique du labyrinthe membraneux et du nerf auditif.

Organe de Corti et canal cochléaire. — L'organe de Corti, ses rapports et la disposition générale du canal cochléaire doivent être étudiés d'abord sur des coupes passant par l'axe du limaçon ou s'éloignant peu de cet axe. Or le limaçon, en partie osseux lui-même, est compris, chez la plupart des mammifères, dans une masse osseuse compacte et résistante. Le promontoire, toujours bien dessiné dans la caisse du tympan, correspond au premier tour de spire du limaçon. Chez le cochon d'Inde, le limaçon tout entier fait saillie dans la caisse ; on l'y voit dès qu'on l'a ouverte. Il est donc bon de commencer chez cet animal l'étude pratique de l'organe de Corti et du canal cochléaire.

Il sera plus facile de dégager le limaçon, et de le ramollir au moyen du réactif décalcificateur que l'on aura choisi : acide chromique, acide chlorhydrique, acide picrique, acide formique, etc. Il importe que la décalcification soit complète ; mais ce n'est pas là que gît la difficulté. Elle porte sur deux points : 1° fixer dans leur forme les éléments délicats qui entrent dans la constitution du canal cochléaire ; 2° en décalcifiant, ne pas déterminer dans le canal cochléaire ou dans les cavités des rampes une accumulation d'acide carbonique suffisante pour briser ou déplacer les parties délicates que l'on se propose d'examiner. Nous avons d'excellents fixateurs, l'acide osmique et le chlorure d'or surtout ; mais ils n'agissent utilement que s'ils sont mis en rapport avec les éléments vivants ou non encore déformés par la mort.

Or les éléments qu'il s'agit de fixer dans le limaçon sont compris dans une masse osseuse qui ne laisse passer ni l'acide osmique ni le chlorure d'or. De plus ces éléments seraient-ils fixés, ils seraient certainement déplacés et même brisés par la pression de l'acide carbonique dégagé dans le canal cochléaire ou dans les rampes du limaçon. Pour obtenir de bons résultats, il faut faire une ou plusieurs ouvertures assez larges dans les rampes et le canal cochléaire, avant de faire agir le réactif fixateur d'abord et ensuite le décalcificateur.

Chez le cochon d'Inde, c'est chose facile. La lame des contours à nu ou presque à nu dans la caisse du tympan se laisse entamer avec le scalpel. Chez les animaux dont le limaçon est enfoui dans l'os compact du rocher, il faut plus d'habileté et d'habitude pour mener à bien l'opération. On doit la pratiquer rapidement et porter immédiatement le limaçon dans le liquide fixateur, autrement la périlymphe ou même l'endolymphe s'écouleraient et seraient remplacées par de l'air ; dès lors la pénétration du réactif serait impossible. J'en suis arrivé à ouvrir le limaçon dans le réactif qui doit en fixer les parties délicates : la solution de chlorure d'or ou la solution d'acide osmique.

Le chlorure d'or donne de bonnes préparations pour l'ensemble et pour certains détails. Il faut le faire agir de la façon suivante :

Le limaçon du cochon d'Inde, convenablement dégagé, est placé dans 1 ou 2 centimètres cubes d'une solution de chlorure d'or à 1 pour 100. Quelques centimètres cubes de la même solution auxquels on a ajouté de l'acide formique dans la proportion de 1/4 et que l'on a fait bouillir, sont ajoutés peu à peu à la première solution dans laquelle se trouve le limaçon. Le but de ce procédé est de faire intervenir l'acide, lorsque les éléments délicats sont déjà un peu fixés par le chlorure d'or.

L'acide formique attaque les sels calcaires de l'os en dégageant de l'acide carbonique qui s'échappe par l'ouverture ou les ouvertures que l'on a pratiquées dans les rampes et le canal cochléaire. Néanmoins, la décalcification produite par l'acide formique n'étant pas suffisante, il sera nécessaire de la compléter ; mais auparavant il faut obtenir la réduction de l'or en exposant le limaçon à la lumière dans de l'eau légèrement acétifiée (1 à 2 gouttes d'acide acétique dans 20 grammes d'eau). Il ne faut pas employer l'acide formique,

parce que cet acide, attaquant l'os, se neutralise, tandis que l'acide acétique dilué est sans action sur les sels calcaires qui entrent dans la constitution de la substance osseuse.

La réduction de l'or ne se produit que dans un milieu acide. Au bout de deux à trois jours, dans les conditions dites plus haut, elle est suffisante. Le limaçon est alors placé dans l'alcool et, vingt-quatre heures après, dans 250 centimètres cubes d'une solution saturée d'acide picrique pour achever la décalcification. Si au bout de deux ou trois jours elle n'est pas suffisante, on renouvelle la solution. Lorsqu'elle est complète, il faut enlever l'acide picrique qui imprègne la pièce par un lavage prolongé, et, pour lui donner une consistance convenable, la traiter successivement par la gomme et l'alcool (voy. les Méthodes générales, p. 78). C'est là une manipulation un peu longue et compliquée, mais elle a un grand avantage sur les autres procédés. Grâce à elle, j'ai pu obtenir des coupes axiales du limaçon du cochon d'Inde adulte dans lesquelles la membrane de Reissner ne manquait dans aucun des tours de spire du canal cochléaire (voy. fig. 564). On pouvait également observer dans ces préparations la coupe du canal cochléaire vers sa terminaison sous la coupole. La méthode de l'or conduit encore à une bonne observation des cellules sensorielles de l'organe de Corti et de la terminaison des nerfs de cet organe; il en sera question un peu plus loin.

L'acide osmique permet aussi d'obtenir de très bonnes préparations de l'organe de Corti. Il est même indispensable de l'employer pour faire une étude complète de cet organe, parce que c'est le réactif fixateur par excellence des éléments délicats, et il convient aussi bien pour les dissocier que que pour les examiner en place dans des coupes convenablement orientées.

Contrairement aux principes généralement admis, il faut employer l'acide osmique en solution faible pour fixer les éléments du canal cochléaire. Les solutions fortes, surtout lorsque leur action est prolongée, les rendent cassants, et ils ne résistent pas ensuite aux manipulations nécessaires pour compléter la préparation histologique. Voici dans ses détails indispensables la méthode que je recommande; le limaçon étant enlevé de l'animal que l'on vient de sacrifier, est placé dans la solution suivante : eau salée à 7 pour 1000 contenant 1 pour 500 d'acide osmique; c'est-à-dire que l'on se sert de la solution de sel, comme comme de l'eau ordinaire, pour préparer une solution d'acide osmique à 1 pour 500. C'est dans cette solution que l'on ouvrira le limaçon. Pour cela, il faut le tenir avec une pince, tandis qu'on l'attaque sur un de ses côtés avec le scalpel. L'opérateur, s'il est un peu lent surtout, sera incommodé par les vapeurs d'acide osmique; il pourra s'en garantir en plaçant une vitre entre sa figure et le baquet à dissection.

En général, au bout de dix à douze heures, l'acide osmique a atteint et fixé les éléments compris dans le canal cochléaire et même il a pénétré au delà. Pour décalcifier le limaçon, ce qui est indispensable si l'on veut en faire des coupes, il faut employer de l'acide chromique en solution faible et abondante; 500 centimètres cubes à 2 pour 1000. La décalcification s'ef-

fectue lentement, ce qui donne à l'acide carbonique dégagé le temps de s'échapper du limaçon. Cependant, malgré que les rampes et le canal cochléaire aient été ouverts, il arrive le plus souvent que la membrane de Reissner est rompue en plusieurs points. Presque toujours alors les deux

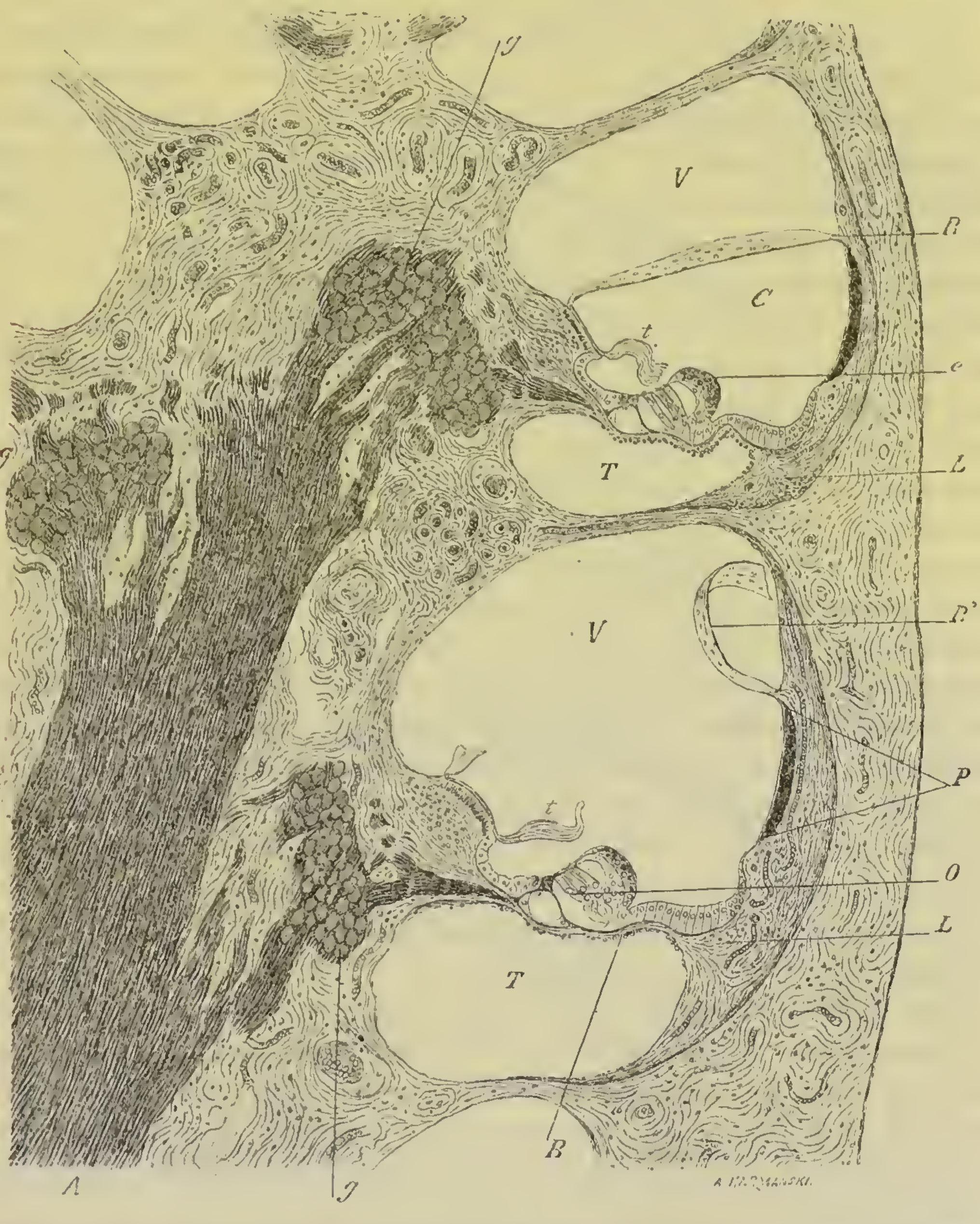


Fig. 565. — Coupe axiale du limaçon du cochon d'Inde, faite après fixation par l'acide osmique et décalcification par l'acide chromique. — *A*, nerf cochléaire : *g*, ganglion spiral ; *V*, rampe vestibulaire ; *T*, rampe tympanique ; *C*, canal cochléaire ; *R*, membrane de Reissner ; *R'*, membrane de Reissner déchirée et dont les lambeaux sont rejetés en dehors : *B*, membrane basilaire ; *L*, ligament spiral : *P*, épithélium pigmenté du canal cochléaire ; *O*, organe de Corti ; *e*, épithélium de la pente externe de l'organe de Corti, chargé de granulations graisseuses (chez le cochon d'Inde) ; *t*, tectoria ou membrane de Corti.

lambeaux qu'elle forme sont déjetés en dehors (voy. fig. 565), ce qui semble indiquer que la rupture s'est faite par suite d'une poussée venant de l'intérieur du canal cochléaire.

Lorsque la décalcification est complète, et pour cela il faut au moins une semaine, on traite par la gomme et l'alcool (voy. Méthodes générales, p. 58)

Les coupes faites à main libre ou au microtome, reçues dans l'alcool, sont portées dans l'eau où l'on doit les laisser un temps suffisant pour dissoudre la gomme, colorées par le picrocarminate d'ammoniaque ou l'hématoxyline et montées en préparation persistante dans la glycérine.

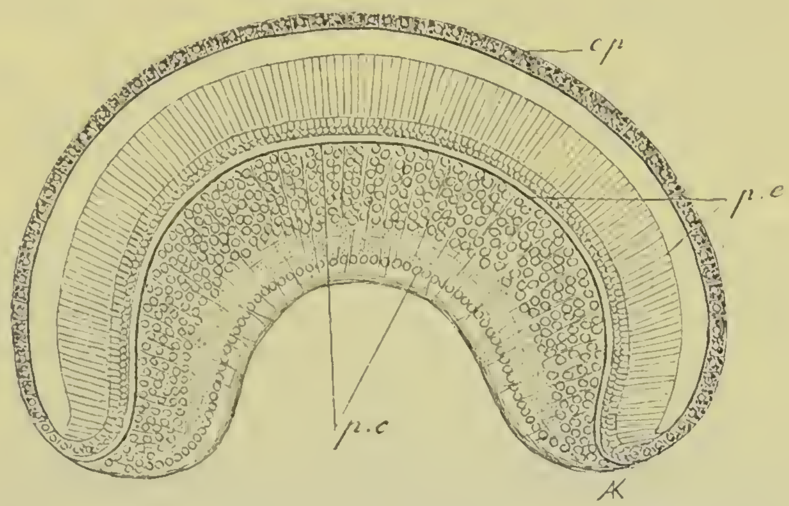
Des coupes passant par l'axe du limaçon permettent de voir toutes ses parties essentielles (fig. 365) : la rampe vestibulaire, V; la rampe tympanique, T; le canal cochléaire, C; la lame spirale, L; la membrane basilaire, B; la membrane de Reissner, R; l'organe de Corti, O, avec ses deux piliers, l'interne et l'externe, avec ses cellules ciliées internes, sur une seule rangée, et ses cellules ciliées externes sur trois rangées; la membrane recouvrante, tectoria ou membrane de Corti, *t*. Ces coupes montrent encore que l'axe du limaçon est creusé pour recevoir la branche cochléaire du nerf auditif et que cette branche, dans son ascension vers la coupole du limaçon, diminue peu à peu de diamètre, parce qu'elle émet, successivement et d'une manière tout à fait régulière, des rameaux qui par leur ensemble forment une membrane nerveuse continue, disposée en spirale, comme la lame spirale osseuse dans laquelle elle est contenue. Dans leur parcours dans la lame spirale osseuse, les fibres du nerf cochléaire se mettent en rapport avec des cellules ganglionnaires, qui par leur ensemble forment un ganglion rubané également disposé en spirale, *ganglion spiral*. Pour compléter cette description sommaire, il convient d'ajouter que la lame spirale osseuse se termine par une gouttière ou sillon, le sillon spiral interne, et que ce sillon a deux crêtes ou lèvres : l'une du côté du sommet du limaçon, *lèvre vestibulaire;* l'autre qui regarde la base du limaçon, *lèvre tympanique*. C'est sur la lèvre tympanique que s'insère la membrane basilaire qui part de là pour aller s'attacher, en face de la lame spirale, sur la lame des contours, après que ses éléments se sont épanouis dans un amas triangulaire, sur la coupe, auquel on a donné le nom de *ligament spiral*.

Il faut maintenant poursuivre l'analyse de la préparation en en examinant spécialement tel ou tel point à un grossissement convenable et avec de bons objectifs. Les notions que l'on peut acquérir ainsi sont déjà très étendues, et il suffira, pour les compléter, de revenir à l'étude des coupes faites sur le limaçon traité par le chlorure d'or et d'examiner quelques-uns de ses éléments convenablement dissociés.

Le canal cochléaire est limité non seulement par la membrane basilaire, la membrane de Reissner et la lame des contours comprise entre ces deux membranes, mais encore par une partie de la crête spirale osseuse, à savoir son extrémité, le sillon spiral interne, et une petite partie de sa face vestibulaire : celle qui est comprise entre l'insertion interne de la membrane de Reissner et la lèvre spirale vestibulaire. Cette petite partie de la crête spirale sert de base d'insertion à la tectoria, qui est libre sur tout le reste de son étendue et recouvre, à la manière d'une membrane molle ou d'un étouffoir, l'organe de Corti proprement dit, constitué sur la tranche de la coupe par ses deux piliers, ses cellules ciliées et par d'autres cellules, dont il n'a pas

encore été question, qui ont été découvertes par Deiters[1] et qui portent son nom (voy. fig. 576). A chaque cellule ciliée externe et associée une cellule de Deiters qui est placée en dessous d'elle et sur son côté externe. En résumé, les piliers de Corti, les cellules ciliées externes et internes et les cellules de Deiters, représentant les parties sensorielles de l'épithélium du canal cochléaire, correspondent à la rétine. Les autres cellules de l'épithélium

A



B

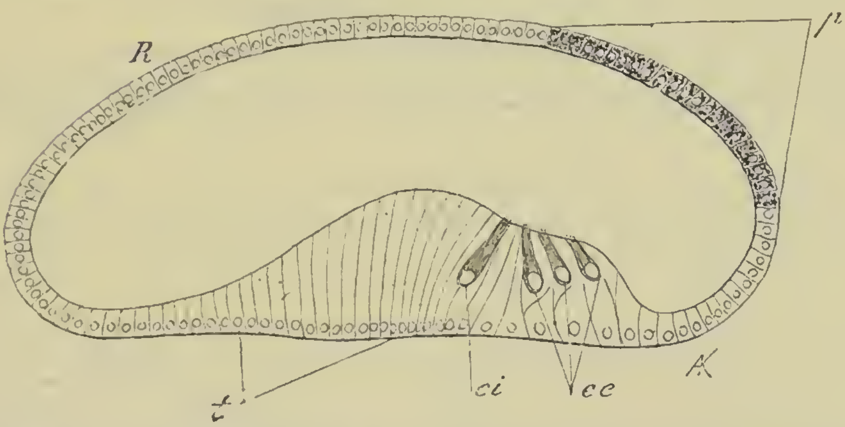


Fig. 566. — Coupes schématiques de la rétine et du canal cochléaire embryonnaire.

A, coupe de la rétine : *ep*, épithélium pigmenté; *pe*, portion névro-épithéliale de la rétine; *pc*, portion cérébrale de la rétine.

B, Coupe du canal cochléaire : *p*, épithélium pigmenté du ruban vasculaire; *R*, épithélium non différencié de la membrane de Reissner; *t*, épithélium de la tectoria; *ci*, cellule sensorielle interne; *ce*, cellules sensorielles externes.

cochléaire sont restées à peu près ce qu'elles étaient à l'origine ou ont été plus ou moins différenciées en vue d'une adaptation physiologique spéciale ; elles représentent, dans le canal cochléaire, l'épithélium pigmenté de la rétine. Une petite partie seulement de l'épithélium cochléaire devient donc sensorielle, et, dans cette petite partie, il y a lieu de distinguer encore des cellules sensorielles proprement dites, les cellules ciliées internes et externes et des

1. *Deiters*, Unters. über die Lam. sp. Memb. Bonn, 1860.

cellules modifiées pour jouer un rôle accessoire dans le phénomène de la sensation, les piliers de Corti et les cellules de Deiters. Ces derniers éléments sont comparables aux fibres de H. Müller ou cellules de soutènement de la rétine. Aussi faut-il, je crois, leur réserver le nom de cellules de soutènement, bien que Deiters l'ait déjà donné aux cellules épithéliales qui sont situées sur le côté externe de l'organe de Corti. Je désignerai ces dernières cellules sous le nom de cellules épithéliales de la pente externe de l'organe de Corti, de même que j'appellerai cellules épithéliales de la pente interne, celles qui sont placées en dedans des cellules ciliées internes, entre ces cellules et celles qui occupent le sillon spiral proprement dit.

L'épithélium du canal cochléaire le moins différencié est celui qui tapisse la membrane de Reissner. Celui qui recouvre la portion cochléaire de la face vestibulaire de la lame spirale et qui correspond à l'insertion de la tectoria présente une disposition toute spéciale sur laquelle il sera nécessaire de revenir. Quant à l'épithélium qui revêt la lame des contours entre la membrane de Reissner et la basilaire, il présente des caractères importants et repose sur une couche de tissu conjonctif richement vascularisé; il contient lui-même un élégant réseau capillaire, et les cellules qui le composent renferment des granulations pigmentaires.

Le limaçon ayant été soumis à l'action de l'acide osmique, de l'acide chromique, du liquide de Müller ou de tout autre réactif fixateur, on arrive sans peine à séparer avec les aiguilles l'épithélium pigmenté et le tissu conjonctif sur lequel il repose, sous la forme d'un ruban. Ce ruban, *ruban vasculaire*, correspond à ce que les auteurs désignent sous le nom de strie vasculaire[1].

En poursuivant la dissociation, on arrive assez facilement à dédoubler le ruban vasculaire en un ruban épithélial et en un ruban connectif, dans chacun desquels on aperçoit un réseau vasculaire distinct ; mais pour obtenir des préparations belles et bien démonstratives, il faut que les vaisseaux soient remplis d'une masse coloriée. Pour y arriver on procède de la manière suivante :

Un cochon d'Inde étant chloroformé, on lui ouvre l'abdomen, on le saigne par l'aorte abdominale, et l'on pousse par le bout antérieur de ce vaisseau une masse de bleu de Prusse soluble à la gélatine (voy. p. 106), en prenant toutes les précautions nécessaires. Après le refroidissement de la masse, on ouvre le crâne, on détache le rocher et on dégage le limaçon. Cet organe ouvert avec soin est placé dans le liquide de Müller. Vingt-quatre ou quarante-huit heures après, on pratique la dissociation dans l'eau et on la conduit de manière à obtenir séparés le ruban épithélial et le ruban conjonctif sous-

1. L'existence de vaisseaux sanguins dans l'épaisseur même de l'épithélium pigmenté du ruban vasculaire a été constatée par un grand nombre d'histologistes : Kölliker (Microsc. Anat. 1852); Gottstein, *Ueber den feineren Bau und die Entw. der Gehörschnecke beim Menschen und den Säugethiere* (Habitat. Abhand. Breslau. 1871) : Waldeyer (Stricker's Handbuch II, 1872, p. 925) ; Hensen, *Zur Morph. der Schnecke des Menschen und der Säugethiere* (Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. 15, 1865); Boettcher. *Ueber Entwick. und Bau des Gehörlabyrinths.* Th. 1, 1869; Urban Pritchard. *The Cochlea of the Ornithol. plat.* (Philosoph. Transact. Roy. Society. Part. II, 1881); G. Retzius, *Ueber ein Blutgefässe führendes Epithelgewebe im membran. Gehörorgan* (Biolog. Untersuch. 20 déc. 1882).

jacent. Le ruban épithélial complètement isolé, coloré au picrocarminate d'ammoniaque et monté dans la résine dammare, fournit d'admirables préparations dans lesquelles on observe les cellules pigmentées et le réseau capillaire compris entre ces cellules (voy. fig. 567). Ce réseau, bien qu'il soit très nettement limité, n'est pas entièrement indépendant du réseau vasculaire du ruban conjonctif; quelques branches capillaires sont communes aux deux réseaux.

Le ruban épithélial avec son réseau capillaire intra-épithélial paraît jouer un rôle important dans l'élaboration et l'équilibre chimique de l'endolymphe.

Pour étudier la lèvre supérieure ou vestibulaire du sillon spiral, il faut dégager la lame spirale d'un limaçon que l'on a fait séjourner vingt-quatre



Fig. 567. — Ruban épithélial vasculaire et pigmenté du canal cochléaire du cochon d'Inde, isolé par dissociation. Le système vasculaire a été injecté d'une masse de bleu de Prusse à la gélatine. — *a*, artériole; *v*, veinule; *c*, capillaire; *e*, cellules épithéliales non pigmentées; *p*, cellules épithéliales pigmentées.

heures dans l'alcool au tiers, la colorer par le picrocarminate et la monter en préparation dans la glycérine ou dans la résine dammare, la face vestibulaire en haut. En général la tectoria a été détachée pendant la dissociation, et il n'en reste rien. La lèvre supérieure du sillon, vue de face, apparaît alors limitée par une série de dents élégantes et d'une forme tout à fait caractéristique. Ces dents sont en continuité avec les travées osseuses de la lame spirale, et cependant elles ne possèdent ni corpuscules osseux ni lamelles osseuses. Elles sont fibrillaires. Ce sont des fibres analogues à celles qui se dégagent des tendons et des ligaments et pénètrent dans les os, les fibres arciformes (voy. p. 555).

Les dents de la lèvre vestibulaire du sillon spiral, dents de la première rangée de Corti, sont séparées par des sillons dans lesquels sont comprises des cellules. Ces cellules appartiennent à l'épithélium cochléaire. Là, cet épithélium n'est pas plus discontinu que dans les autres régions du canal cochléaire, bien qu'il paraisse interrompu au niveau de chaque dent. Lavdowsky[1], ayant soumis la lame spirale à l'imprégnation d'argent, a vu les

1. *Lavdowsky*. Untersuch. über den akust. Endapparat der Säugethiere (*Arch. f. mikr. Anat.*, XIII, 1876, p. 497).

cellules épithéliales assez étendues pour se rejoindre à la surface des dents et y former un pavé régulier, dont les lignes inter-cellulaires, marquées par le dépôt d'argent, se poursuivaient aussi bien dans les sillons interdentaires que sur les dents elles-mêmes.

Arrivons à la tectoria. Elle est implantée par sa base sur l'épithélium de la face vestibulaire de la lame spirale, et la fusion de cette membrane avec des cellules épithéliales montre déjà qu'elle est de nature cuticulaire. On se convaincra que c'est là une bonne interprétation, si l'on examine des coupes frontales de la lame spirale et de la tectoria, faites sur un limaçon traité par l'or et préparé comme il a été dit plus haut (voy. p. 765).

Dans ces préparations, les dents coupées perpendiculairement à leur axe forment des champs incolores, tandis que les cellules comprises entre elles et la tectoria sont colorées en violet (voy. fig. 568). Cette membrane est une simple dépendance des cellules épithéliales.

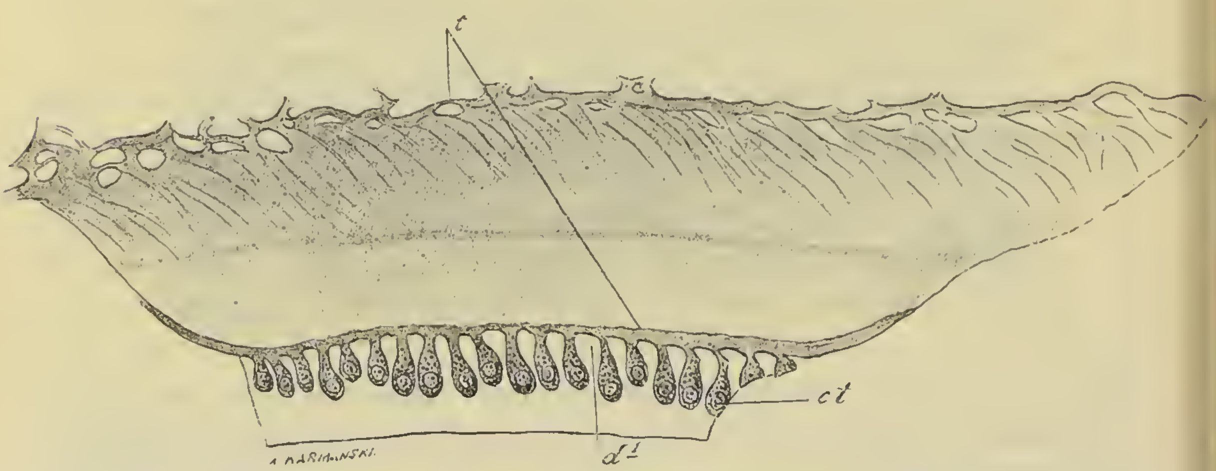


Fig. 568. — Coupe frontale de la lame spirale et de la tectoria du cochon d'Inde, faite sur le limaçon soumis à l'action du chlorure d'or et décalcifié par l'acide picrique. — *t*, tectoria; *d*¹, dents de la première rangée, coupées transversalement; *ct*, cellules formatives de la tectoria.

Revenons aux préparations obtenues par dissociation, après fixation des tissus par l'acide osmique. Il arrive souvent que l'on a détaché une portion de la lame spirale et qu'à la lèvre inférieure ou tympanique de celle-ci il est resté attaché une portion plus ou moins étendue de la membrane basilaire. Parfois celle-ci, surtout lorsque la dissociation a été un peu rude, apparaît dégagée de tous les éléments épithéliaux qui la recouvraient et tout à fait à nu. Elle se montre alors formée de fibres raides, parallèles et d'une admirable régularité. A sa surface, se voient des empreintes, ou plutôt des traces, des piliers de Corti et des cellules de soutènement (cellules de Deiters). Ces divers éléments, en se détachant de la basilaire, y ont laissé une petite portion de leur base d'implantation.

Isoler par la dissociation les parties dont il vient d'être question, c'est-à-dire le ruban spiral, la crête spirale et la membrane basilaire, et les monter en préparations persistantes dans la glycérine ou dans la résine dammare, est chose facile, parce qu'il s'agit d'objets relativement volumineux que l'on peut saisir facilement avec la pince ou les aiguilles. Il n'en est plus de même

des éléments qui composent l'organe de Corti proprement dit, les cellules ciliées, les piliers de Corti, les cellules de soutènement et une mince membrane cuticulaire qui recouvre tous ces éléments et qui est connue sous le nom de membrane réticulaire. La difficulté consiste moins dans l'isolation de ces diverses parties, que dans leur conservation dans des préparations persistantes, afin de pouvoir les dessiner à la chambre claire et les étudier à loisir. Voici un procédé qui simplifie le travail, l'abrège et le rend fructueux :

Lorsque le limaçon ouvert dans la solution d'acide osmique (voy. p. 764) est suffisamment fixé, on le dissocie tout entier sur une lame de verre dans quelques gouttes d'eau. Pendant cette opération, on examine à la loupe et on élimine tous les fragments inutiles. Puis on colore au moyen du picrocarminate. Lorsque la coloration des noyaux est produite, on ajoute de la glycérine étendue. La préparation est alors abandonnée à l'air pendant quelques heures, afin de diminuer par l'évaporation la quantité du liquide, puis elle est portée sur une lame de cuivre chauffée à la température de 35 ou 40 degrés. On y met de la colle de poisson à la glycérine (voy. p. 119), et après avoir bien mélangé avec l'aiguille et étendu sur la lame de verre, on laisse refroidir. Les parties dissociées prises dans la gélatine ne se déplacent plus. Lorsqu'on a choisi certaines d'entre elles, en examinant à un grossissement faible, on les détache au moyen du scalpel ou de l'aiguille à cataracte avec une partie de la gélatine qui les entoure et on les porte sur une nouvelle lame de verre dans une goutte de colle à la glycérine préalablement fondue.

Une autre méthode pourra être employée avec avantage pour isoler les piliers de Corti, les cellules ciliées et les cellules de soutènement, parce qu'elle conduit à une dissociation plus facile et plus complète. Le limaçon, convenablement enlevé et ouvert, est placé pendant vingt à vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers. Il est ensuite dissocié sur une lame de verre. Une goutte de picrocarminate à 1 pour 100, étant ajoutée à la préparation, colore les éléments. On laisse évaporer à l'air, de telle sorte qu'en retournant la la lame de verre, les parties dissociées et le liquide additionnel réduit par l'évaporation y restent suspendus. Elles sont exposées ainsi aux vapeurs d'acide osmique dans une chambre humide. En quelques minutes, les éléments délicats, isolés par l'action de l'alcool au tiers, sont métallisés et fixés dans leur forme. Il suffit alors de les monter dans la glycérine ou dans la colle de poisson à la glycérine pour en faire des préparations définitives. C'est là un des procédés particuliers de cette méthode générale qui donne de si beaux résultats, méthode qui consiste à combiner l'action des réactifs dissociateurs et des réactifs fixateurs (voy. rétine, p. 755).

Il sera facile à un anatomiste habitué au maniement du microscope d'arriver à faire en peu de temps une bonne analyse de l'organe de Corti, s'il veut suivre exactement les divers procédés que je viens d'indiquer. Il observera d'abord les piliers de Corti en place dans les coupes axiales du limaçon et apprendra à distinguer les piliers internes des piliers externes. Il verra la

manière dont ils sont arc-boutés pour laisser entre eux un tunnel dont le plancher est formé par la membrane basilaire. Il verra qu'au pilier externe, au voisinage de sa base et sur sa face interne, est annexée une masse de protoplasma contenant un noyau ; que le pilier interne possède deux noyaux entourés chacun d'une masse de protoplasma distincte, l'un près de sa base et l'autre près de sa tête, tous les deux en dehors.

Il est de toute évidence que les piliers de Corti sont des cellules dont une partie a été différenciée, tandis que l'autre est restée embryonnaire ou indifférente. Les masses de protoplasma nucléées qui leur sont attachées représentent leurs cellules formatives. De ce qu'il y a deux de ces masses annexées au pilier interne faut-il en conclure que deux cellules distinctes ont présidé à sa formation? On peut aussi bien admettre qu'il y en avait une seule, car les cellules à deux ou à un plus grand nombre de noyaux ne sont pas rares, et elles ne proviennent pas nécessairement pour cela de la fusion de plusieurs cellules.

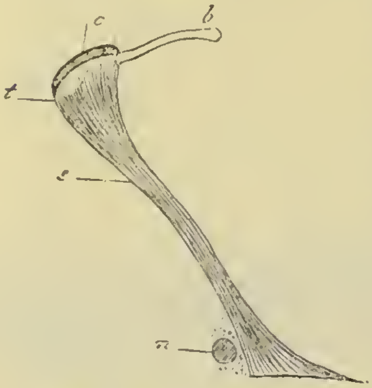


Fig. 569. — Pilier externe de l'organe de Corti, complètement isolé, après l'action de l'alcool au tiers. — *s*, striation longitudinale du corps du pilier; *t*, tête du pilier; *c*, bourrelet de la tête; *b*, prolongement externe ou réticulaire; *n*, noyau entouré d'un reste du protoplasma formateur.

Après avoir pris connaissance de la forme générale et des rapports réciproques des deux piliers de Corti, il est nécessaire de les examiner complètement isolés ou réunis, mais séparés de la membrane basilaire et des cellules qui les entourent. C'est ce que l'on peut faire facilement dans les préparations obtenues par dissociation en suivant les procédés indiqués plus haut. On reconnaît facilement ainsi leur constitution fibrillaire. Le pilier externe plus fort, plus large que l'interne, présente une tête volumineuse munie d'un bourrelet en forme de fer à cheval qui la limite en dedans et sur les côtés (voy. fig. 569 et fig. 572) et d'une expansion externe, une sorte de bec. Le pilier interne, plus grêle, possède une tête aplatie, courbée, dont la concavité embrasse la tête du pilier externe.

Pour apprécier le nombre relatif des piliers externes et des piliers internes, il faut qu'un groupe de ces piliers, encore unis ensemble, se montre par le haut, comme dans une vue à vol d'oiseau de l'organe de Corti, suivant l'expression même de Corti. On reconnaît ainsi que les piliers internes sont plus nombreux que les externes et qu'à six têtes de ceux-ci correspondent sept têtes des premiers, chez le lapin, par exemple.

Les cellules ciliées, cellules sensorielles, cellules auditives, sont colorées en violet plus ou moins foncé sous l'influence du chlorure d'or employé comme il a été dit plus haut (voy. fig. 576). Elles tranchent par leur coloration sur tous les éléments qui entrent dans la constitution de l'organe de Corti, à l'exception des fibres nerveuses qui sont presque noires. On voit ainsi qu'elles ont la forme d'un dé à coudre renversé, c'est-à-dire que l'orifice de ce dé correspond à la surface de l'épithélium cochléaire ; cet orifice est fermé

par une cuticule. Du reste, ces cellules ne sont pas creuses, et dans leur intérieur se voit un noyau régulièrement sphérique, que l'or n'a pas coloré ou n'a que faiblement coloré.

Les cellules ciliées s'obtiennent parfaitement isolées après l'action de l'alcool au tiers. On y observe parfois une queue, une sorte de prolongement cassé, qui correspond à l'insertion d'une fibre nerveuse. C'est l'analogue du prolongement central des cellules olfactives et des cellules visuelles.

Les cellules de soutènement, cellules de Deiters, se voient mal dans les coupes. Dans celles qui sont obtenues après l'action de l'acide osmique et de l'acide chromique (voy. fig. 565) après coloration au picrocarminate, on observe un peu au-dessous et en dehors de chaque noyau des cellules ciliées externes, un autre noyau qui a la même grosseur et la même forme ; ce noyau appartient à une cellule de soutènement. Dans les coupes faites après l'action du chlorure d'or (voy. fig. 576), les cellules de soutènement sont colorées en violet moins foncé que les cellules sensorielles ; mais la teinte violette qu'elles revêtent cependant les distingue des cellules épithéliales de la pente externe de l'organe de Corti. Néanmoins, on ne peut bien voir les cellules de soutènement et apprécier convenablement leurs rapports avec les cellules auditives que dans les préparations obtenues par dissociation après l'alcool au tiers (voy. p. 774). Ces cellules, comme l'a dit Deiters qui les a découvertes[1], présentent deux prolongements ; l'un de ces prolongements s'attache à la membrane basilaire, c'est le prolongement basilaire; l'autre va se fixer à la membrane cuticulaire, analogue à la membrane limitante externe de la rétine, et dont il sera bientôt question. Le corps de chaque cellule de soutènement est fortement renflé et déjeté en dedans; il se moule d'une manière exacte sur la cellule auditive qui est placée sur son côté interne. Cette dernière cellule est assise sur sa cellule de soutènement, comme une personne sur une chaise.

1. Deiters (*loc. cit.*) supposait que la cellule ciliée et la cellule de soutènement qui lui correspond possédaient chacune un prolongement basilaire, et que ces deux prolongements se soudaient pour former un seul pied. Waldeyer et Gottstein (voy. Stricker's Handb., p. 956), après avoir remarqué la double masse de protoplasma du pilier de Corti interne, furent conduits à penser que les cellules ciliées et les cellules de Deiters sont fondues ensemble comme les deux cellules qui formeraient le pilier interne. Ils ont désigné ces cellules comme des cellules jumelles.

Il suffisait d'employer l'alcool au tiers comme réactif de dissociation pour séparer les cellules ciliées des cellules de Deiters, et c'est ce que j'avais fait en 1881, pour mon cours public du Collège de France. Un jeune médecin auriste qui suivait ce cours et travaillait dans mon laboratoire, M. Baraton, dans un travail publié la même année, intitulé *Pathogénie des affections de l'oreille*, etc., Paris, 1881, dit à la page 20 : « Ranvier a pu voir que les cellules fusiformes (cellules de Deiters) présentent deux prolongements : un supérieur ou phalangé et un inférieur ou basilaire, et une encoche au niveau du corps de la cellule, à l'endroit où la cellule sensorielle s'adosse à la cellule ciliée. On peut donc considérer ces cellules jumelles (celles décrites par Gottstein et par Waldeyer) comme deux éléments bien distincts : une cellule ciliée, *cellule sensorielle*, en forme de tube (l'auteur veut dire tube bouché) reposant sur une *cellule fusiforme* présentant pour le recevoir une dépression, etc. »

Plus récemment, G. Retzius, dans son ouvrage admirable sur l'oreille interne (Das Gehörorgan der Wirbelthiere, T. II. Stockholm. 1884), étudiée dans la série des vertébrés, est arrivé aux mêmes conclusions. Il est probable qu'il n'a pas eu connaissance du résultat de mes recherches, car il n'en dit rien.

Supposons maintenant que la personne, au lieu d'être vue de profil, soit de trois quarts : nous arriverons ainsi, je le crois, à avoir une idée juste de la manière dont se montrent les cellules ciliées et leurs cellules de soutènement dans les coupes axiales du limaçon. J'y reviendrai bientôt à propos de la membrane réticulaire.

Chez les animaux jeunes et même adultes, les cellules de soutènement paraissent formées de protoplasma granuleux dans la plus grande partie de leur masse : leurs prolongements qui, à leur base, sont granuleux, comme le corps de la cellule, deviennent vers leurs extrémités de plus en plus homogènes et réfringents, comme la tête ou la base des piliers de Corti. Il est clair que les cellules de Deiters et les piliers de Corti sont des éléments du même genre. L'analogie est plus frappante chez les animaux âgés. Chez ceux-ci, le corps de la cellule de soutènement est parcouru dans toute sa longueur par une fibre réfringente qui se poursuit dans les deux prolongements de la cellule, le réticulaire et le basilaire. Cette fibre qui souvent occupe le bord externe de la cellule de soutènement est l'équivalent d'un pilier de Corti. Le protoplasma sur lequel la cellule ciliée est assise correspond à la masse protoplasmique nucléée du pilier externe.

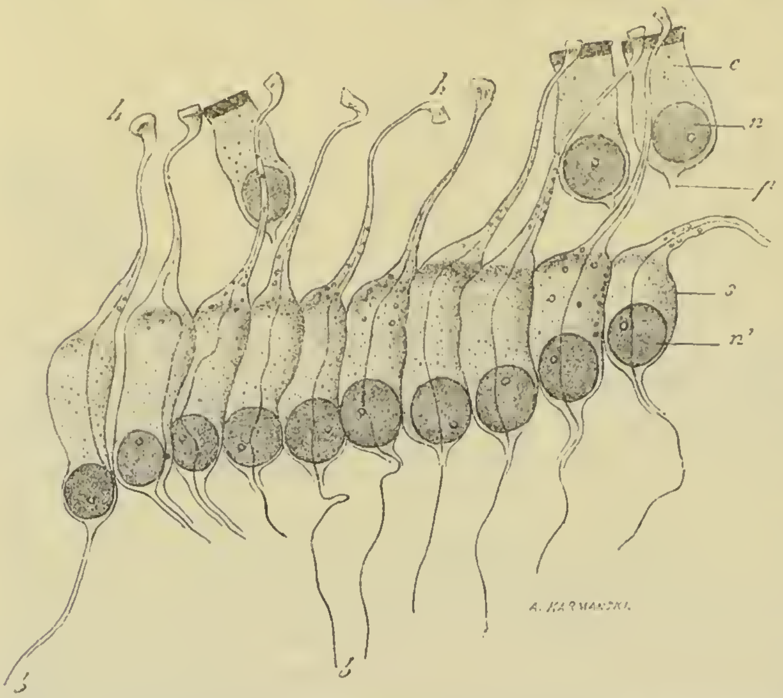


Fig. 570. — Groupe de cellules auditives et de cellules de soutènement de l'organe de Corti d'un lapin âgé de deux ans, au moins. Ce groupe de cellules a été isolé après l'action de l'alcool au tiers : il a été coloré au moyen du picrocarminate et conservé dans la glycérine que l'on a substituée lentement au mélange de picrocarminate et d'alcool au tiers. — *c*, cellules auditives ; *n*, noyau de ces cellules ; *pn*, leur prolongement nerveux ; *s*, cellules de soutènement ou de Deiters ; *n'*, noyau de ces cellules ; *h*, leur prolongement réticulaire ; *b*, leur prolongement basilaire.

L'organe de Corti est recouvert d'une cuticule, et cette cuticule, on l'a déjà vu plus haut, est l'analogue de la membrane limitante externe de la rétine. Elle est connue sous le nom de membrane réticulaire, parce que vue de face elle montre le dessin d'un réseau. Ce dessin est d'une remarquable élégance. Pour l'amateur qui cherche dans la nature de jolis objets à voir au microscope, il n'en est pas de plus élégant que la membrane réticulaire, sans en excepter la carapace des diatomées. Cette membrane s'étend, depuis la tête des piliers qui semblent en faire partie, sur les trois rangées de cellules ciliées externes et sur les cellules de soutènement correspondantes. Elle se poursui-

vrait sur les cellules de la pente externe de l'organe de Corti, d'après Deiters, pour former ce que cet auteur a désigné sous le nom de cadre terminal.

La membrane réticulaire ne peut être étudiée dans les coupes. Celles-ci permettent à peine de soupçonner son existence.

Dans les préparations faites au moyen des procédés de dissociation indiqués plus haut, il est, au contraire, facile d'observer la membrane réticulaire et d'y reconnaître tous les détails de sa fine structure. En dehors des têtes des piliers de Corti, commence une première rangée d'anneaux correspondant à la première rangée des cellules ciliées externes. Ces anneaux, même lorsque les cellules ciliées ont été détachées, sont occupés par une mince membrane à laquelle le plus souvent sont demeurés attachés les cils auditifs disposés en demi-cercle (lapin, cochon d'Inde). En dehors de cette première rangée d'anneaux s'en voit une seconde. Les anneaux de cette seconde rangée alternent avec ceux de la première.

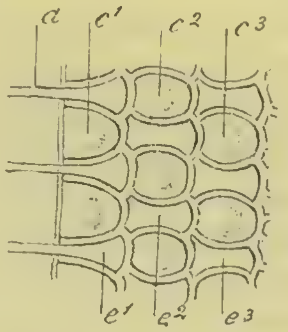


Fig. 571. — Membrane réticulaire du lapin, isolée par dissociation après l'action de l'acide osmique; la membrane est vue par en dessous. — *a*, expansion externe de la tête du pilier externe; c^1, c^2, c^3, les trois rangées d'anneaux; e^1, e^2, e^3, les trois rangées de phalanges.

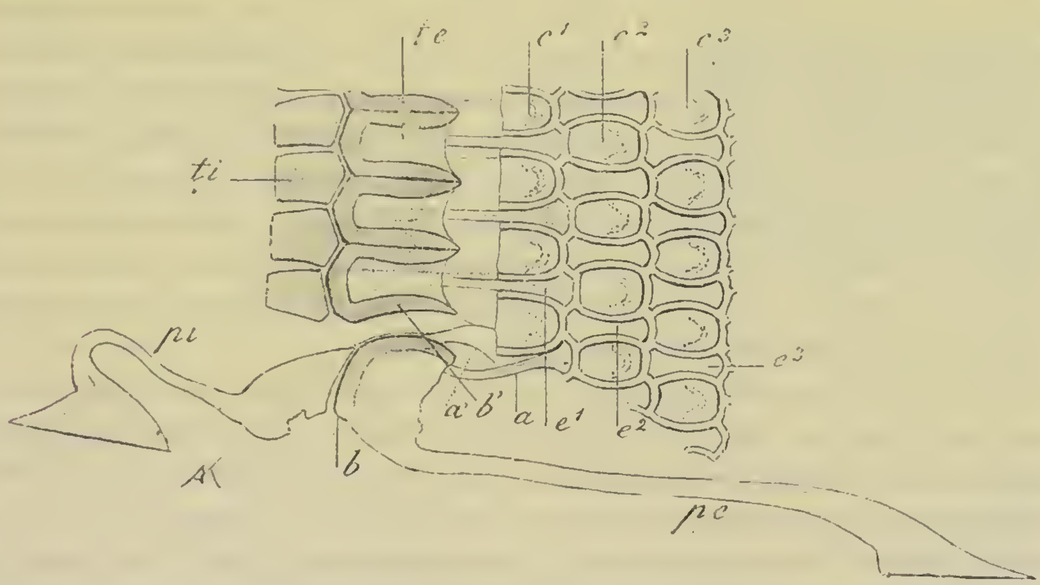


Fig. 572. — Membrane réticulaire de l'organe de Corti du lapin, isolée par dissociation après l'action de l'acide osmique. Une manipulation heureuse a conduit à la préparation dessinée ici, car elle permet de voir, d'une manière très exacte, les rapports des piliers de l'organe de Corti avec la membrane réticulaire. — *pi*, pilier interne; *a'*, expansion externe de la tête de ce pilier: *pe*, pilier externe; *b*, le bourrelet de sa tête; *a*, son expansion externe. Ces deux piliers sont vus de trois quarts; les autres, vus à vol d'oiseau, ne montrent que leur tête; *ti*, tête des piliers internes; *te*, tête des piliers externes; *b'*, bourrelet de la tête des piliers externes vus dans les mêmes conditions; c^1, c^2, c^3, les trois rangées d'anneaux de la membrane réticulaire; e^1, e^2, e^3, les trois rangées de phalanges de la même membrane.

Ceux de la troisième rangée alternent avec ceux de la seconde, comme ceux de la seconde alternent avec ceux de la première. Entre les anneaux d'une même rangée, se trouvent les phalanges, sortes d'anneaux aplatis latéralement qui servent à l'insertion des prolongements réticulaires des cellules de sou-

tènement. Le dessin est préférable à toute description pour donner une idée de la structure de la membrane réticulaire. Quant à sa nature cuticulaire et à ses rapports, ils sont si évidents qu'il n'est pas nécessaire de rien ajouter à leur sujet. Les phalanges correspondent à l'extrémité réticulaire des cellules de soutènement, comme l'a établi Deiters. Cependant celles de la rangée interne reçoivent les expansions externes des piliers externes de Corti (fig. 372).

Épithélium sensoriel de l'utricule, du saccule et des ampoules des canaux demi-circulaires. — Comme on l'a vu plus haut, dans tous les points de la vésicule auditive où se rendent les ramifications terminales du nerf acoustique, l'épithélium se différencie et prend les caractères d'un épithélium sensoriel. Aux îlots d'épithélium sensoriel de l'utricule et du saccule M. Schultze[1] a donné le nom de *macules auditives*. Dans les ampoules des canaux demi-circulaires, les régions sensorielles forment une crête saillante en dedans. En dehors, cette crête, crête acoustique de M. Schultze, correspond à une dépression en forme de pli, dans laquelle s'insinuent les branches ampullaires du nerf auditif. L'épithélium sensoriel présente la même disposition dans les macules et dans les crêtes acoustiques.

Chez les poissons osseux, le brochet, la perche, etc., le labyrinthe membraneux étant situé presque tout entier dans la boîte crânienne, il est très facile de l'enlever et de le traiter par les réactifs qui conviennent pour la préparation des macules et des crêtes acoustiques. On peut pénétrer dans la boîte crânienne par la région supérieure; mais il est préférable de l'attaquer par la face inférieure et de commencer par ouvrir le canal rachidien, en enlevant successivement les corps des premières vertèbres. Dès qu'on arrive à la base du crâne, on aperçoit les otolithes comprises dans le saccule; il faut alors mettre un peu de soin pour dégager complètement le labyrinthe membraneux. Celui-ci est placé dans une solution d'acide osmique à 5 pour 1000 dans l'eau distillée, ou dans une solution de cet acide à 5 pour 1000 dans l'eau salée à la dose physiologique, 7 pour 1000.

Les ramifications du nerf auditif, qui tranchaient par leur blancheur et leur opacité sur les différents départements de la vésicule auditive remarquables par leur transparence, prennent bientôt, sous l'influence de l'acide osmique, une teinte brune qui devient de plus en plus foncée et qui dessine admirablement la distribution des fibres nerveuses. Il suffit de quelques heures d'immersion dans le réactif pour fixer d'une manière convenable les éléments des macules et des crêtes que l'on se propose d'étudier. On place alors le labyrinthe dans l'eau; on colore en masse par le picrocarminate d'ammoniaque; on lave de nouveau; puis le labyrinthe convenablement coloré est traité successivement par l'alcool au tiers, l'alcool à 90°, l'alcool fort, l'alcool absolu. Pour faire les coupes, on inclut la pièce dans le mélange de cire et d'huile (voy. p. 79), la celloïdine ou le collodion (voy. p. 80).

Chez les mammifères, le labyrinthe membraneux étant entièrement compris dans le rocher, on ne peut le dégager pour le soumettre isolé à l'action

1. *Max Schultze*, Ueber die Endigungsweise des Hörnerven im Labyrinth. (*Arch. Müller*, 1858, p. 343).

des réactifs fixateurs; mais on arrive, néanmoins, à obtenir des coupes des macules et des crêtes acoustiques, en employant les procédés indiqués déjà pour la préparation du limaçon et de l'épithélium sensoriel du canal cochléaire. Après avoir détaché le rocher du lapin, du cochon d'Inde, du rat, etc., on ouvre avec des ciseaux ou une pince tranchante la caisse du tympan; on enlève les osselets et la muqueuse, de manière à dégager la fenêtre ovale et favoriser la pénétration des réactifs dans le vestibule où, comme on le sait, sont compris l'utricule et le saccule, et duquel partent les canaux demi-circulaires. L'acide osmique est le meilleur des fixateurs; pour décalcifier, on emploiera l'acide chromique ou l'acide picrique. Les coupes seront faites après inclusion dans le mélange de cire et d'huile ou dans la celloïdine. Elles seront colorées au moyen du picrocarminate et conservées dans la glycérine. Il faut qu'elles soient perpendiculaires à la surface pour les macules, et qu'elles atteignent les crêtes perpendiculairement à leur direction.



Fig. 573.

Empruntée à Max Schultze (*Ueber die Endigungsweiss des Hoernerven im Labyrinth*, Arch. de Müller. 1858. p. 343). — Cellules épithéliales de la crête acoustique de la raie, reposant sur du tissu conjonctif traversé par deux fibres à myéline, *ff*. — *a*, cellules cylindriques; *b*, cellules basales; *c*, cellules fusiformes: *d*, prolongements périphériques; *e*, prolongement central de ces cellules.

Chez les mammifères, la surface de l'épithélium sensoriel des macules et des crêtes paraît recouverte d'une cuticule. Cet épithélium présente une épaisseur beaucoup plus considérable que l'épithélium non sensoriel de la vésicule auditive. On le dirait formé de plusieurs rangées de cellules. Chez les poissons cartilagineux, les raies en particulier, M. Schultze avait trouvé, dans les macules et les crêtes acoustiques, des cellules de trois espèces : des cellules basales, des cellules fusiformes qu'il a comparées aux cellules olfactives, et des cellules épithéliales qui sont les analogues des cellules de soutènement de la muqueuse olfactive.

Des auteurs plus récents, Rudinger[1] d'abord, G. Retzius[2] ensuite, ont nié l'existence des cellules basales. On observerait seulement, d'après ces auteurs, deux sortes de cellules dans l'épithélium sensoriel des macules et des crêtes acoustiques : des cellules auditives, cellules sensorielles proprement dites, et des cellules épithéliales ou de soutènement; seulement, pour Rudinger, les cellules sensorielles seraient les cellules fusiformes de M. Schultze, tandis que pour G. Retzius les cellules fusiformes ou sensorielles de M. Schultze seraient des cellules de soutènement.

Ceci étant dit, revenons à l'examen des coupes des macules auditives des mammifères, faites après l'action de l'acide osmique. On y observe (fig. 574),

1. Stricker's Handb., p. 905.
2. *G. Retzius*, Das Gehörorgan der Wirbelthiere. Stockholm, 1881-1884.

immédiatement au-dessus de la membrane propre qui limite le chorion connectif de la vésicule auditive, une première rangée de noyaux disposés d'une manière très régulière et qui correspondent aux cellules basales de M. Schultze. Les fibres nerveuses sans myéline, provenant des fibres à myéline du nerf acoustique, s'insinuent entre les cellules basales, les dépassent et forment au-dessus d'elles un plexus plus ou moins net, plus ou moins serré, suivant les animaux, qui paraît être l'analogue du plexus basal de l'épithélium olfactif et de la rétine (voy. p. 718 et 751). Au-dessus du plexus basal, se voient les cellules ciliées, cellules sensorielles, semblables aux cellules ciliées de l'organe de Corti, ayant la forme d'un dé à coudre renversé, comme ces dernières cellules, et qui correspondent bien à la description de G. Retzius. A un niveau inférieur, se trouvent les noyaux des cellules de soutènement. Ces cellules envoient, entre les cellules sensorielles, des prolongements périphériques qui atteignent la cuticule et des prolongements centraux qui, vraisemblablement, passent entre les cellules basales pour atteindre la surface de la membrane propre du saccule.

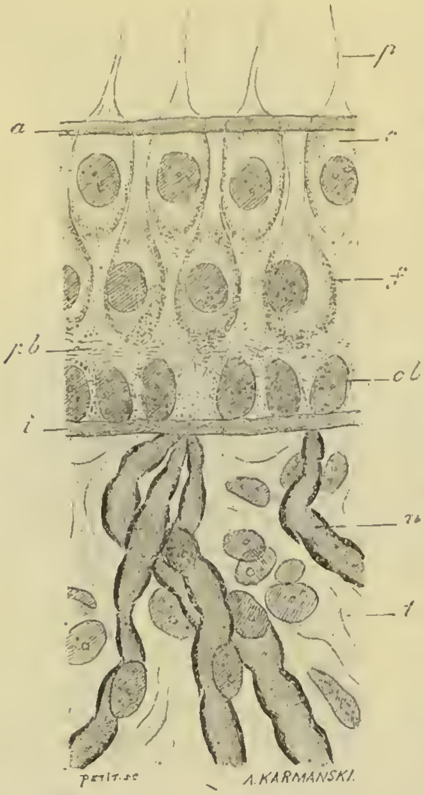


Fig. 374. — Macule acoustique du lapin adulte. Coupe perpendiculaire à la surface de la macule, faite après fixation par un mélange à parties égales d'acide osmique à 1 pour 100 et d'alcool ordinaire et décalcification par l'acide chromique à 2 pour 1000. Cette coupe a été colorée au moyen du picrocarminate et conservée dans la glycérine. — *c.* cellules ciliées; *f.* cellules fusiformes; *cb.* cellules basales; *p.* groupe de cils des cellules ciliées; *a.* cuticule ou limitante interne; *i*, membrane basale ou limitante externe, reposant sur le chorion connectif du saccule *t*; *n.* fibres nerveuses qui perdent leur gaine de myéline en traversant la membrane basale et forment ensuite le plexus basal *pb*.

Chez le brochet, les fibres nerveuses des macules et des crêtes acoustiques conservent leur myéline dans une partie de leur trajet intra-épithélial (G. Retzius), ainsi qu'on peut bien facilement le reconnaître par l'examen de coupes faites après fixation et durcissement du labyrinthe par l'acide osmique. En arrivant au plexus basal, ces fibres s'incurvent, deviennent parallèles à la surface et, après un trajet plus ou moins tortueux dans le plexus, se résolvent en fibres sans myéline.

Les cellules sensorielles des macules et des crêtes auditives ont leur extrémité profonde en rapport avec le plexus basal. Leur extrémité libre porte un cil volumineux, souvent très long, qui, d'après G. Retzius, serait constitué par un faisceau de cils très grêles.

L'épithélium des macules et des crêtes acoustiques, avec ses cellules basales, son plexus basal, ses cellules sensorielles et ses cellules de

soutènement, présente la plus grande analogie avec l'épithélium olfactif.

Structure du nerf auditif. Terminaisons de ce nerf. — On vient de voir que les fibres du nerf auditif, qui se rendent aux macules et aux crêtes acoustiques, pénètrent dans l'épithélium, y forment un plexus et se terminent dans les cellules sensorielles. Chacune de ces fibres présente, sur son trajet, une cellule ganglionnaire. Les fibres du nerf auditif qui, chez les mammifères, se rendent à l'organe de Corti, fibres cochléaires, possèdent aussi des cellules nerveuses ganglionnaires. Toutes ces cellules sont bipolaires, aussi bien chez les mammifères que chez les poissons.

Le brochet convient très bien pour l'étude des fibres et des cellules du nerf auditif. Le labyrinthe de cet animal étant dégagé par le procédé indiqué plus haut (page 776), on l'enlève, après avoir coupé avec des ciseaux le nerf auditif. Le labyrinthe est alors placé dans une solution à 5 pour 1000 d'acide osmique dans l'eau salée à la dose physiologique. Au bout de dix minutes à un quart d'heure, les ramifications du nerf auditif sur le saccule et les ampoules des canaux demi-circulaires sont dessinées en noir. On peut, en se servant de pinces et de petits ciseaux, détacher, sans difficulté, le rameau du nerf auditif qui se rend à la grande macule du saccule. Ce rameau s'aplatit pour distribuer ses fibres à toute l'étendue de la macule. On le place sur une lame de verre dans une ou deux gouttes de sérum iodé faible (voy. p. 552), et on le dissocie avec les aiguilles. Si, après les premières manœuvres de dissociation, on examine, à un grossissement faible, sans lamelle à recouvrir, on remarque que l'acide osmique n'a pas fixé et coloré également les fibres et les cellules nerveuses comprises dans la branche sacculaire de l'acoustique. Cela tient à ce que le réactif a agi d'abord sur les couches superficielles et n'a pas pénétré les profondes. Cette inégalité de l'action de l'acide osmique est une condition favorable ; elle permet d'obtenir des éléments qui sont suffisamment fixés et qui cependant se colorent vivement par le picrocarminate. Il suffit d'ajouter une très petite quantité de ce réactif colorant et de poursuivre la dissociation, pour obtenir, complètement isolés, des tubes nerveux de l'acoustique, munis de leurs cellules ganglionnaires, et dont les noyaux sont nettement colorés (voy. fig. 575). Ces tubes ont un petit diamètre ; ils possèdent une gaine de myéline, des étranglements annulaires et, par conséquent, une gaine de Schwann. Du reste, on peut distinguer, au milieu de chaque segment interannulaire, le noyau de ce segment, placé au sein du protoplasma qui double la membrane de Schwann, comme dans les fibres nerveuses ordinaires. Le nerf acoustique ne possède donc pas une structure spéciale comme l'olfactif et l'optique.

Les cellules bipolaires, qui sont annexées aux fibres nerveuses de l'acoustique, occupent le milieu d'un segment interannulaire. Comme le cylindre-axe, sur le trajet duquel elles sont du reste comprises, elles sont entourées d'une couche de myéline. Si l'action de l'acide osmique a été trop forte, elles se montrent sous la forme d'un globe noir, dans lequel il est impossible d'observer aucun détail de structure ; c'est pour cela qu'il est nécessaire de suivre exactement le mode de préparation indiqué plus haut.

Les cellules bipolaires, situées au milieu d'un segment interannulaire, doivent être considérées comme une dépendance de ce segment. C'est là un fait morphologique du plus grand intérêt, et sur lequel je devrai revenir à propos des ganglions spinaux. Si la cellule ganglionnaire occupe le milieu d'un segment interannulaire, le noyau de cette cellule ne doit cependant pas être considéré comme l'équivalent du noyau du segment. Ce noyau existe ; on le retrouve au-dessous de la membrane de Schwann, entre cette membrane et le corps de la cellule nerveuse. En général, il est situé au voisinage d'un des pôles de cette cellule. Un accident heureux de dissociation est celui qui est représenté dans la figure 575, B : la membrane de Schwann ayant été déchirée au niveau de la cellule nerveuse, celle-ci se montre à peu près complètement isolée, en relation avec le cylindre-axe qui la traverse,

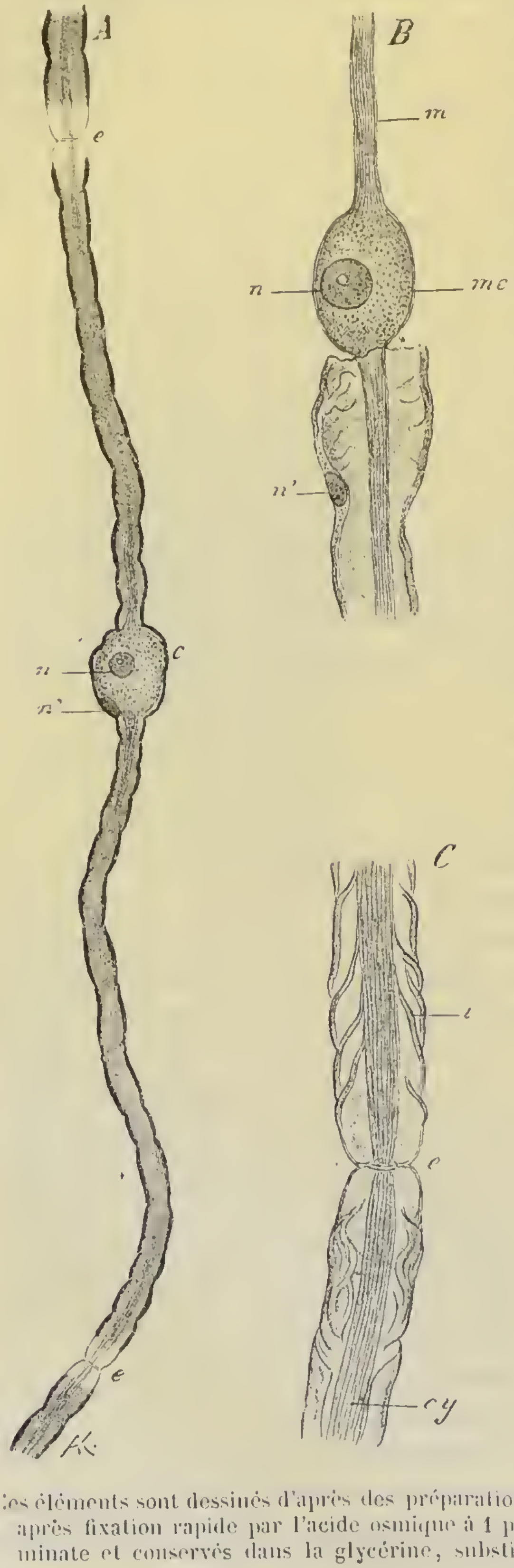


Fig. 575. — Branche sacculaire du nerf auditif du brochet. — *A*, un tube nerveux de cette branche avec sa cellule ganglionnaire, *c*: *n*, noyau de cette cellule; *e*, étranglement annulaire; *n'*, noyau du segment interannulaire qui se trouve au niveau de la cellule ganglionnaire. — *B*, une des cellules ganglionnaires du nerf sacculaire, vue à un plus fort grossissement, et qui, par un hasard heureux de la dissociation, se trouve presque entièrement dégagée de sa gaine de myéline : *m*, cylindre-axe strié; entouré d'une mince membrane qui se poursuit à la surface de la cellule ganglionnaire, *mc*: *n*, noyau de cette cellule ; *n'*, noyau du segment interannulaire dans lequel la cellule ganglionnaire est comprise. — *C*, un tube nerveux au niveau d'un étranglement annulaire, vu à un grossissement encore plus considérable; *e*, étranglement; *cy*, cylindre-axe strié en long; *i*, incisure.

Ces éléments sont dessinés d'après des préparations obtenues par dissociation dans le sérum iodé, après fixation rapide par l'acide osmique à 1 pour 100; ils ont été colorés à l'aide du picrocarminate et conservés dans la glycérine, substituée lentement au mélange de sérum iodé et de picrocarminate.

tandis que la gaine de Schwann, doublée de son protoplasma, au sein duquel se trouve le noyau du segment interannulaire, se montre comme une capsule[1].

1. Max Schultze, dans l'article qu'il a consacré aux éléments nerveux dans le *Manuel*

Chez les mammifères, les fibres du nerf acoustique possèdent aussi une couche de myéline, des étranglements annulaires et une membrane de Schwann. Sur le trajet de ces fibres, aussi bien celles qui sont destinées au limaçon que celles qui se rendent aux macules et crêtes acoustiques, il existe une cellule bipolaire, analogue à celle du nerf acoustique des poissons; mais, la couche de myéline du tube nerveux ne se poursuit pas sur la cellule ganglionnaire, elle s'arrête au niveau de ses pôles. La membrane de Schwann et le protoplasma qui la double se poursuivent seuls sur la cellule nerveuse.

Pour observer ces faits, on peut dissocier, après les avoir fixés par l'acide osmique, soit le ganglion annexé à la branche vestibulaire de l'acoustique, soit le ganglion du limaçon connu sous le nom de ganglion spiral. Certains détails, notamment la disparition de la myéline des tubes nerveux au voisinage des cellules ganglionnaires, la continuation de la membrane de Schwann, la présence du noyau du segment interannulaire au voisinage d'un des pôles de la cellule ganglionnaire, peuvent être reconnus dans les coupes faites après l'action de l'acide osmique, le limaçon étant ensuite décalcifié par l'acide chromique.

Pour terminer l'étude histologique du nerf acoustique, il reste à suivre les fibres de ce nerf dans le limaçon jusqu'aux éléments essentiels de l'organe de Corti. Le nerf cochléaire, dégagé du tronc du nerf acoustique, s'insinue dans un canal qui occupe l'axe du limaçon. A mesure qu'il monte dans ce canal, il abandonne successivement ses fibres au niveau de la base de la crête spirale, de manière à former une sorte de membrane nerveuse disposée en spirale, comme la crête spirale elle-même. C'est au niveau de la base de cette crête que se trouvent les cellules ganglionnaires annexées au nerf cochléaire. Ces cellules, par leur ensemble, forment un ganglion membraneux qui se poursuit en spirale, de la base du limaçon à son sommet; c'est le ganglion spiral. Après avoir traversé les cellules du ganglion spiral, les fibres nerveuses continuent leur trajet dans l'épaisseur de la crête spirale pour atteindre sa lèvre tympanique et arrivent à la face inférieure de la membrane basilaire qui présente des ouvertures, en forme de boutonnières, pour les laisser passer (habenula perforata). Ces ouvertures sont situées immédiatement en dedans de la base d'implantation des piliers internes de Corti. Pour les traverser, les fibres nerveuses se groupent en petits faisceaux; au delà, elles perdent leur gaine médullaire et prennent les caractères que les auteurs attribuent généralement aux fibres pâles.

Entre l'orifice de la membrane basilaire, le pilier interne et la cellule sensorielle ou ciliée interne, le parcours et la distribution des fibres nerveuses sont encore entourés d'une très grande obscurité. Jusqu'à présent, aucun histologiste n'a rien observé de net à ce sujet. Dans les préparations obtenues à l'aide de la méthode de l'or, préparations dont il a été question

d'Histologie de Stricker, a déjà signalé l'extension de la gaine de myéline sur les cellules ganglionnaires du nerf acoustique; mais il n'a pas pu saisir toute l'importance morphologique de cette disposition, parce qu'il ne connaissait pas les étranglements annulaires. Ils ont été découverts deux ans après.

à la page 765, toute la région comprise entre l'orifice de la membrane basilaire et la cellule ciliée interne est colorée en violet foncé (voy. fig. 576). Dans les coupes faites après l'action de l'acide osmique, les fibres nerveuses, dépourvues de leur gaine de myéline, ne peuvent être observées nettement.

Il est probable que les fibres du nerf cochléaire, arrivées dans cette région, y forment un plexus serré, constitué par des fibres nerveuses fines entrelacées dans toutes les directions, comme dans le plexus basal de la rétine, par exemple, et qu'il s'en dégage des fibres destinées aux cellules ciliées internes. De ce plexus, que je désignerai sous le nom de plexus spiral

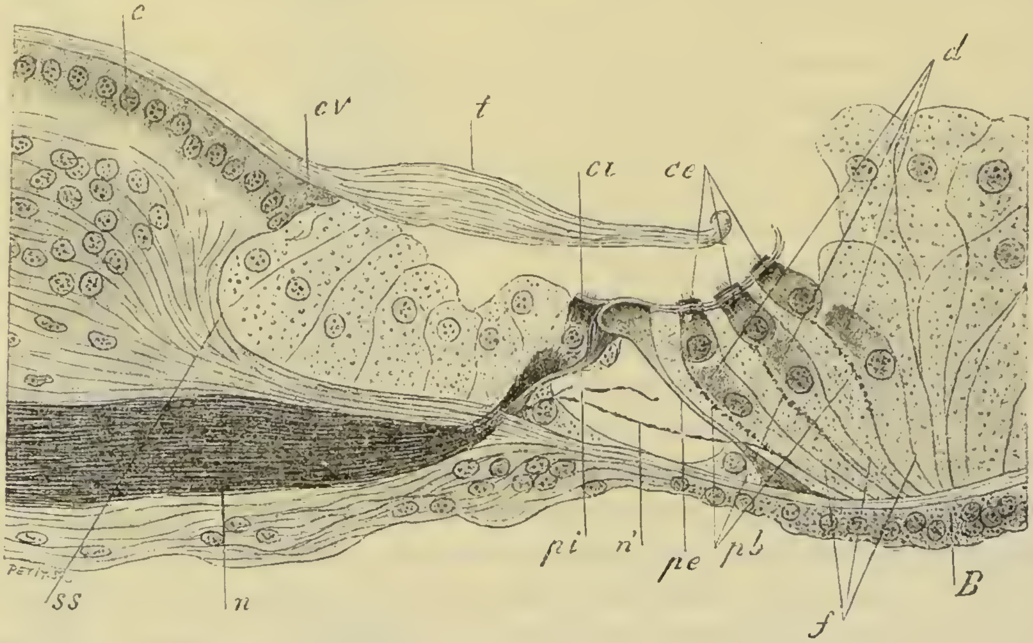


Fig. 576. — Coupe axiale du limaçon du cochon d'Inde, faite après l'action d'une solution de chlorure d'or à 1 pour 100 à laquelle on a ajouté peu à peu une égale quantité de la même solution de chlorure d'or mélangée d'un quart d'acide formique, portée à l'ébullition et refroidie. Le limaçon a été ouvert préalablement. Après avoir séjourné vingt-cinq minutes dans la solution, il a été placé à la lumière dans de l'eau légèrement acétifiée; après réduction du chlorure d'or, il a été décalcifié dans une solution saturée d'acide picrique. Le durcissement a été complété par l'action successive de la gomme et de l'alcool. Les coupes, après un séjour de vingt-quatre heures dans l'eau pour enlever la gomme, ont été montées dans la glycérine. Les cellules ciliées externes *ce*, et les cellules ciliées internes *ci*, ainsi que leurs cils, sont colorés par l'or: les cellules de soutènement ou de Deiters sont moins fortement colorées: *B*, membrane basilaire: *t*, tectoria ou membrane de Corti; *pe*, pilier externe: *pi*, pilier interne: *ss*, sillon spiral: *e*, épithélium du canal cochléaire qui concourt à la formation de la tectoria; *n*, nerf cochléaire coupé au niveau de son expansion spirale: *n'*, fibre du nerf cochléaire, dépourvue de myéline, qui traverse le canal compris entre les piliers de Corti, pour aller former les plexus, spiral 1, spiral 2, spiral 3, *pb*; *f*, fibres différenciées des trois cellules de Deiters.

interne, partent d'autres fibres nerveuses qui s'insinuent entre les pieds des piliers de Corti internes, pour pénétrer dans le tunnel formé entre les piliers internes et les piliers externes. Ces fibres ont été déjà décrites par Deiters, en 1860, dans le travail cité plus haut. Comme elles ne sont entourées d'aucun autre élément, dans l'intérieur du tunnel, tunnel rempli d'endolymphe cochléaire ou d'une endolymphe particulière, il en résulte qu'elles sont déjà nettes après l'action de l'acide osmique qui les fixe sans les colorer: mais elles sont plus nettes encore dans les préparations obtenues par la méthode de l'or, suivant le procédé indiqué plus haut. A ce sujet, il y a lieu

de faire remarquer que ce procédé est le seul qui, jusqu'à présent, ait fourni des préparations dans lesquelles les fibres du limaçon soient convenablement colorées par l'or.

Après avoir traversé le tunnel, les fibres nerveuses s'insinuent entre les piliers externes; au delà desquels on les perd, pour voir, à leur place, une série de fibres nerveuses coupées en travers qui ont été représentées par G. Retzius dans ses figures relatives à l'organe de Corti du lapin. Seulement, les préparations de G. Retzius ont été faites au moyen de l'acide osmique, et, s'il y a combiné le chlorure d'or, ce dernier réactif ne lui a cependant pas donné de coloration caractéristique.

En employant le procédé indiqué plus haut (p. 765), et en montant ensuite les coupes axiales du limaçon, pas trop minces, dans la résine dammare, après les avoir convenablement déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de girofle, on peut reconnaître que les fibres nerveuses qui, dans ces coupes axiales, sont sectionnées perpendiculairement à leur direction, appartiennent à des plexus dont les branches d'origine sont les fibres du tunnel découvertes par Deiters.

En résumé, à chaque rangée de cellules ciliées ou sensorielles externes, correspond un plexus spiral externe 1, 2 et 3. Le plexus spiral externe 1 est compris entre le pilier externe et la première cellule de soutènement; le plexus spiral externe 2, entre la première et la seconde cellule de soutènement; le plexus spiral 3, entre la seconde et la troisième (voy. fig. 376).

Les fibres nerveuses terminales, qui se rendent aux cellules ciliées externes, ne viennent donc pas directement des fibres qui traversent le tunnel; mais du plexus spiral correspondant à chacune d'elles.

RÉSUMÉ DES NOTIONS ACQUISES SUR LA STRUCTURE DES ORGANES DES SENS

Le sens le plus répandu dans l'organisme, le tact, possède des appareils spéciaux qui sont connus sous le nom d'organes tactiles, bien que des fibres nerveuses, ne possédant aucune terminaison spéciale et comme disposées au hasard, puissent nous donner des notions plus ou moins exactes sur le lieu de l'excitation.

La cornée, avec son plexus fondamental, son plexus en zigzag, son plexus sous-basal, son plexus sous-épithélial et son plexus intra-épithélial dont les fibres se terminent par des boutons, possède une sensibilité remarquable, et cependant on n'y observe aucun élément cellulaire spécial annexé aux fibres nerveuses, c'est-à-dire aucune cellule pouvant jouer un rôle sensoriel quelconque. L'appareil nerveux si compliqué de la cornée est relatif à la protection de l'œil contre les injures extérieures.

Dans diverses régions de la peau, on trouve, comme dans la cornée, un plexus intra-épithélial et des boutons nerveux terminaux. Il est logique de penser que ce sont des organes de sensibilité dont les fonctions physiologiques sont semblables à celles des nerfs de la cornée. Mais dans la peau, là où le tact s'exerce d'une façon spéciale, par exemple le groin de quelques mammifères,

la pulpe des doigts de l'homme, le bec de la plupart des palmipèdes, aux fibres nerveuses terminales sont annexées des cellules spéciales. Les fibres nerveuses sensitives et les cellules du tact sont combinées de manière à constituer de petits organes bien limités, organes ou corpuscules du tact. Le plus simple de ces organes, le plus facile à étudier, se trouve dans le bec et la langue des palmipèdes. Dans ces corpuscules, on peut observer, de la manière la plus nette, la terminaison du nerf sous forme de disque entre deux cellules tactiles; il ne paraît pas y avoir de fusion entre le nerf et les cellules sensorielles. Il n'y a pas non plus de fusion entre les ménisques tactiles et les cellules du tact que l'on observe dans l'épiderme, par exemple dans celui du groin du cochon, des doigts de l'homme, des poils tactiles, etc. On doit donc rejeter la manière de voir de Merkel, d'après laquelle la cellule tactile serait une cellule nerveuse terminale.

Il est probable que la cellule tactile, sous l'influence d'une excitation mécanique, réagit sur le disque, ménisque ou bouton terminal de la fibre nerveuse, avec lequel elle affecte seulement des rapports de contiguïté, en déterminant sur lui une réaction physique ou chimique.

Si la terminaison du nerf olfactif dans les cellules sensorielles olfactives est fort probable, elle n'est pas absolument démontrée. Les prolongements centraux des cellules olfactives se poursuivent bien d'une manière manifeste avec les fibres du plexus basal; mais, on ne peut pas suivre une fibre olfactive, à travers ce plexus, jusqu'au prolongement central d'une cellule olfactive.

Dans les organes du goût, la méthode de l'or, bien appliquée, conduit à reconnaître la continuité des fibres nerveuses avec les cellules sensorielles gustatives. Grâce à cette méthode, on peut encore observer, dans l'épithélium qui entoure les bourgeons du goût, des fibres nerveuses intra-épithéliales semblables à celles de la cornée. Ces fibres, qui dépendent de la sensibilité générale, jouent un rôle important dans la protection des appareils nerveux sensoriels; sans elles, ils seraient exposés aux traumatismes de la mastication. Leur action physiologique se rapproche donc de celle des nerfs de la cornée, dont la sensibilité est si nécessaire à la conservation de l'œil et de la rétine.

A priori, il est difficile d'admettre que les nerfs du goût ou de l'olfaction soient excités directement par les substances sapides ou odorantes. On doit croire plutôt que ces substances agissent d'abord sur les cellules sensorielles et que celles-ci réagissent sur les terminaisons nerveuses en les excitant. On ne saurait concevoir, en effet, que les fibres nerveuses, étant de simples conducteurs, puissent apprécier par elles-mêmes, une saveur ou une odeur.

Arrivons maintenant à la comparaison de la rétine avec les autres épithéliums sensoriels. Évidemment, les cellules visuelles sont les équivalents des cellules gustatives, des cellules olfactives et des cellules du tact. Elles sont en rapport avec les fibres du nerf optique; mais celles-ci ont traversé auparavant deux plexus, à la formation desquels elles concourent : le plexus

cérébral et le plexus basal. De plus, ces fibres se sont perdues dans des cellules nerveuses ou ganglionnaires pour se reconstituer au delà avec des modifications considérables. Par exemple, après qu'elles se sont répandues à la face interne de la rétine, les fibres du nerf optique semblent se terminer toutes dans les cellules multipolaires par leur prolongement cylindraxile, tandis que les prolongements protoplasmiques de ces cellules vont se rendre dans le plexus cérébral. Les prolongements protoplasmiques des cellules multipolaires sont donc, pour un certain trajet, les seuls conducteurs des impressions visuelles. On peut répéter à peu près, pour les cellules bipolaires, ce qui vient d'être dit des cellules multipolaires. Ces deux espèces de cellules nerveuses, ainsi que les cellules unipolaires, doivent être considérées, la science autorise à le faire, comme autant de petits plexus auxquels sont annexés des organes spéciaux, le noyau et le globe ganglionnaire (voy. p. 754).

Ces organes jouent probablement un rôle très important dans la sensation : celui de modérateurs ou équilibrateurs, ayant pour but d'entraver l'éblouissement.

Il est inutile de revenir sur l'analogie de constitution de l'épithélium des crêtes et des macules auditives avec l'épithélium olfactif et avec la couche névro-épithéliale de la rétine (voy. p. 778).

Dans le canal cochléaire, on dirait que la nature a disposé les choses pour que les fibres du nerf acoustique ne soient excitées directement que le moins possible par les ébranlements du son. En laissant de côté le nerf cochléaire qui est placé au centre du limaçon et qui, par son ensemble, constitue une masse difficile à ébranler, pour ne s'occuper que des fibres terminales, ne sera-t-on pas frappé de voir ces fibres traverser la membrane basilaire tout près de son insertion à la lame spirale osseuse, là où les vibrations de la membrane doivent être réduites à leur minimum? Au delà, transformées en fibrilles délicates et dépouillées d'enveloppes protectrices, après qu'elles ont traversé les piliers internes de Corti, elles sont plongées dans un liquide, ne touchant aucune partie résistante pouvant leur transmettre des vibrations. Lorsqu'elles ont traversé le tunnel, elles se mettent en rapport avec les cellules de soutènement, dont le corps délicat a certainement une consistance très molle. On dirait que, pour assurer la pureté de la sensation, l'excitation ne doit porter que sur les cellules ciliées, et encore sur une partie seulement de ces cellules, les cils auditifs : car elles sont noyées dans la masse molle de leurs cellules de soutènement respectives et n'éprouvent pas, sans doute, d'ébranlement latéral. Le nerf n'est donc pas excité directement par les vibrations. Il est probable que la cellule, excitée par ces vibrations, réagit physiquement ou chimiquement sur la fibrille nerveuse auditive avec laquelle elle est en rapport.

Tous ces faits établissent que les parties essentielles des organes des sens, muqueuse olfactive, rétine, macules et crêtes acoustiques, organe de Corti et même organe du tact, sont construites d'après un même plan.

ORGANES NERVEUX CENTRAUX

Sous le nom d'organes nerveux centraux, on entend non seulement le cerveau, le cervelet et la moelle épinière, mais encore les ganglions annexés aux nerfs cérébro-spinaux ou aux cordons sympathiques. Ces ganglions qui possèdent des cellules nerveuses ou ganglionnaires, comme les centres nerveux proprement dits, sont désignés quelquefois sous le nom de centres périphériques. Certains d'entre eux, les ganglions sympathiques par exemple, sont, en effet, le point de départ d'incitations motrices et fonctionnent donc comme des centres nerveux.

Les ganglions ayant une structure plus simple que la moelle épinière, le cerveau et le cervelet, il convient de commencer par eux l'étude des centres nerveux.

CHAPITRE XX

GANGLIONS NERVEUX

Les ganglions nerveux sympathiques n'ont pas la même structure que les ganglions cérébro-spinaux; il ne faut donc pas les confondre dans la même description.

GANGLIONS ET CORDONS SYMPATHIQUES

Bien que le système symphatique, auquel on donne parfois le nom de système nerveux végétatif ou de la vie organique, constitue un appareil indépendant jusqu'à un certain point des centres cérébro-spinaux, il y a cependant entre eux d'innombrables connexions anatomiques et physiologiques.

Tandis que les nerfs de la vie animale, à l'exception de l'olfactif, présentent une teinte blanchâtre et une opacité laiteuse, les cordons sympathiques et les nombreux ganglions qui leur sont annexés sont grisâtres et translucides. Comme les rameaux périphériques du sympathique se rendent surtout aux viscères et aux vaisseaux sanguins et concourent par conséquent à l'innervation des appareils de la vie organique, on considéra la translucidité et la teinte grisâtre des nerfs comme un caractère important du système nerveux de la vie organique. Cette conception parut recevoir une confirmation importante par la découverte de Remak des fibres nerveuses sans myéline, auxquelles on donna même le nom de fibres sympathiques. Cependant Remak avait déjà observé que des fibres organiques ou sympathiques se montrent dans les nerfs cérébro-spinaux, et on ne tarda pas à reconnaître que dans les nerfs électriques (voy. p. 599) et les nerfs

moteurs de la vie animale (voy. p. 618), au voisinage de leur terminaison, les tubes nerveux perdent leur gaine de myéline et deviennent des fibres sans myéline.

Les mêmes données furent étendues aux nerfs de la sensibilité (voy. Nerfs de la cornée, p. 664). Malgré tout, la notion de fibre sympathique organique persista dans la science et on en trouve encore la trace dans des travaux tout à fait récents.

Il y a souvent beaucoup moins de fibres de Remak dans les cordons sympathiques que dans les nerfs mixtes cérébro-spinaux. Pour s'en convaincre, il n'y a qu'à dissocier, après l'action de l'acide osmique (voy. p. 557), le cordon sympathique cervical et le pneumogastrique du lapin et comparer les préparations. On trouve des fibres de Remak dans le sympathique; mais elles sont peu nombreuses, tandis qu'elles dominent dans le pneumogastrique. Chez le chien, le cordon sympathique cervical se confond dans une partie considérable de son trajet avec le pneumogastrique. Les deux nerfs confondus, soumis à l'action des bichromates alcalins ou de l'acide chromique (voy. p. 564), fournissent des coupes transversales qui, colorées au picrocarminate et montées dans la résine dammare, sont fort instructives. D'emblée, on reconnait le sympathique, malgré qu'il soit compris dans la même gaine lamelleuse que le pneumogastrique (fig. 577). Il parait presque entièrement formé de tubes nerveux semblables, mais très petits, présentant tous les caractères qu'on observe dans les coupes transversales des tubes nerveux proprement dits : cercles incolores formés par la gaine de myéline, au centre desquels se trouve le cylindre-axe coloré en rouge. Dans la portion de la coupe qui correspond au pneumogastrique, l'aspect est tout à fait différent. Les tubes nerveux présentent des diamètres fort variés. Il y en a qui sont aussi larges que dans les nerfs des membres, le sciatique ou le médian, par exemple; tandis que d'autres sont aussi minces que ceux du sympathique. En outre, on observe, colorés vivement par le picrocarminate, de nombreux îlots de forme irrégulière et constitués par des fibres de Remak coupées en travers, caractérisées parce qu'on n'y voit pas les cylindres-axes comme des points rouges au centre de cercles blancs formés par la gaine médullaire.

Chez le chien, le sympathique et le pneumogastrique réunis sont entourés d'une même gaine lamelleuse et forment par conséquent un seul faisceau nerveux.

Chez le lapin, le sympathique cervical est constitué par des faisceaux distincts dont le nombre varie suivant les régions.

Les cordons latéraux thoraciques et abdominaux du sympathique, comme le sympathique cervical, sont formés, en majeure partie, de tubes nerveux à myéline possédant des étranglements annulaires et des segments interannulaires; mais ces segments sont courts parce que les tubes nerveux, auxquels ils appartiennent, sont très grêles.

Les rameaux du sympathique qui se détachent, soit du sympathique cervical, soit des cordons sympathiques thoraciques et abdominaux et qui se

rendent dans les organes, contiennent un plus grand nombre de fibres de Remak, et, à mesure qu'on les examine plus près de leur terminaison, les tubes nerveux disparaissent peu à peu, pour être finalement remplacés par des fibres sans myéline. Si, après l'avoir soumis à l'action de l'acide osmique (voy. p. 575), on dissocie le cordon sympathique abdominal du lapin, et il est

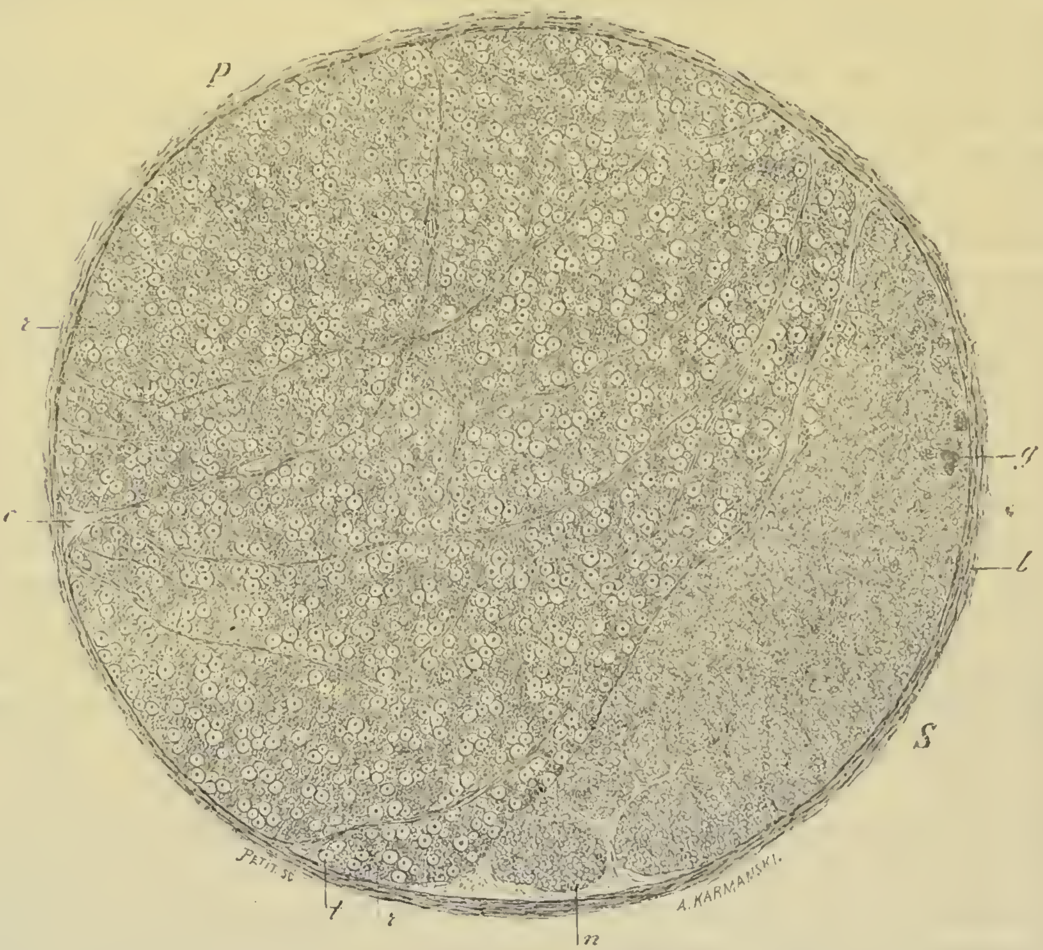


Fig. 577. — Coupe transversale du pneumogastrique et du sympathique du chien, confondus dans la région cervicale. Cette coupe a été faite après durcissement par l'acide chromique : elle a été colorée par le picrocarminate et montée dans la résine dammare. — *P*, pneumogastrique ; *S*, sympathique ; *c*, cloison connective du pneumogastrique ; *t*, tubes nerveux à myéline ; *r*, fibres de Remak ; *n*, petits tubes nerveux du sympathique groupés en faisceaux plus ou moins limités, séparés par des cloisons connectives ; *g*, cellules ganglionnaires du sympathique ; *l*, gaine lamelleuse commune au pneumogastrique et au sympathique.

bon de choisir pour cela des lapins jeunes, parce que, chez eux, le tissu conjonctif est moins résistant et, par suite, la dissociation plus facile, on peut constater, sans difficulté aucune, pourvu qu'on ait un peu l'habitude de manier les aiguilles, la transformation des tubes nerveux à myéline en fibres de Remak. Après un dernier étranglement annulaire, la gaine de myéline disparait. La membrane de Schwann et le protoplasma qui la double, fondus avec le protoplasma péricylindraxile, se poursuivent seuls. La fibre nerveuse, dorénavant dépourvue de toute gaine médullaire, se perd dans le système plexiforme des fibres de Remak.

Lorsque le cordon sympathique cervical, thoracique ou abdominal est en rapport avec un des ganglions de la chaîne sympathique, il ne disparait pas

dans son intérieur. Le ganglion lui est simplement accolé, cependant il est généralement compris dans la même gaine lamelleuse que le cordon sympathique et les rameaux nerveux afférents et efférents. Une petite partie seulement des fibres du cordon se met en connexion avec les cellules du ganglion, et, auparavant, ces fibres perdent leur gaine de myéline. C'est ainsi que s'explique l'aspect de régions plus ou moins étendues de la coupe du sympathique cervical, chez le chien notamment, au voisinage des ganglions. On y voit apparaître des cellules ganglionnaires, et toujours ces cellules sont entourées d'une zone de fibres de Remak coupées transversalement, caractérisées par leur teinte rouge et leur aspect particulier (fig. 378).

Chez les batraciens, les cordons sympathiques ont à peu près la même structure que chez les mammifères. Comme ce sont des types bien éloignés l'un de l'autre dans la série des vertébrés, on est en droit de supposer que, chez tous, les cordons sympathiques sont formés en majeure partie de fibres à myéline minces.



Fig. 378. — Coupe transversale du cordon sympathique du chien, faite un peu au-dessous d'un ganglion. Le cordon sympathique a été durci dans le bichromate d'ammoniaque; les coupes ont été colorées au picrocarminate et montées dans la résine dammare, après avoir été déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de girofle; *l*, gaine lamelleuse; *t*, tubes nerveux de petit diamètre; *r*, fibres de Remak coupées en travers; *g*, cellule ganglionnaire.

Par contre, les cellules nerveuses des ganglions sympathiques ont une structure bien différente chez les batraciens et chez les mammifères : elles sont unipolaires ou plutôt ont l'apparence unipolaire chez les batraciens, tandis qu'elles sont franchement multipolaires chez l'homme, le chien, le lapin, etc.

Les cellules sympathiques des batraciens anoures ont une forme qui a déjà été décrite, pages 642 et suivantes, à propos des nerfs cardiaques et de leur terminaison. Ces cellules (voy. fig. 379) possèdent une fibre droite qui se rend immédiatement au globe ganglionnaire, et une fibre spirale grêle qui, après s'être enroulée autour de la fibre droite, semble se perdre dans l'écorce ganglionnaire.

Pour étudier les cellules sympathiques de la grenouille, on peut, comme il a été indiqué à la page 642, les rechercher dans le pneumogastrique, nerf qui n'appartient pas au système sympathique, mais qui, néanmoins, contient quelques éléments sympathiques au milieu de ses fibres. C'est là une disposition qui rend la dissociation facile et fructueuse. La cloison des oreillettes et le sinus veineux du cœur conviennent également pour la préparation des cellules sympathiques (voy. p. 645); il y en a aussi de très belles dans le plexus fondamental de la vessie (p. 651). Enfin, une dissociation convenable du symphatique lombaire, faite après l'action de l'acide osmique seul ou de l'acide osmique et de l'alcool (p. 658), permet encore d'obtenir des cellules sympathiques avec leurs fibres droites et leurs fibres spirales.

Les cellules sympathiques des batraciens sont nettement limitées; elles sont entourées d'une capsule au-dessous de laquelle on distingue des noyaux. Elles sont atteintes, au même niveau, par les deux fibres nerveuses qu'elles reçoivent : la fibre droite et la fibre spirale. Ce sont deux fibres sans myéline, dont l'une au moins procède vraisemblablement d'un tube nerveux muni d'une gaine de myéline, ainsi qu'il ressort de ce qui a été dit plus haut sur la constitution des cordons sympathiques et sur la modification de leurs éléments au voisinage des ganglions. Lorsque les deux fibres nerveuses se rejoignent, elles confondent leurs enveloppes membraneuses, et ce sont celles-ci qui constituent, par leur extension, la capsule de la cellule.

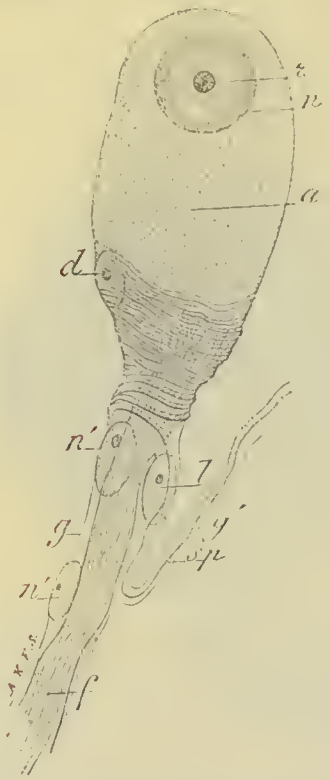


Fig. 579. — Cellule ganglionnaire du pneumogastrique de la grenouille (acide osmique, picrocarminate, glycérine). — *a*, globe ganglionnaire; *n*, noyau; *r*, nucléole; *d*, noyau de la capsule; *f*, fibre droite; *g*, sa gaine de Henle; *n'*, noyau de cette gaine; *sp*, fibre spirale; *g'*, sa gaine; *l*, noyau de cette gaine.

Nous avons vu qu'au-dessous de la capsule, se trouvent des noyaux. Ces noyaux sont toujours situés à la base de la cellule, là où les deux fibres se rencontrent.

Si, au lieu d'employer de bons réactifs fixateurs, l'acide osmique par exemple, on suit la méthode qui a été préconisée en 1865 par J. Arnold, méthode qui consiste à faire agir successivement l'acide acétique à 1 pour 1000 et l'acide chromique à 1 à 2 pour 10000, la substance corticale de la cellule, qui se trouve immédiatement au-dessous de la capsule, subit des modifications considérables. Il s'y forme des vacuoles qui changent complètement l'aspect de la cellule. Ces déformations consécutives à l'emploi de réactifs insuffisants ont été prises par J. Arnold pour des dispositions anatomiques, et lui ont fourni un dessin qui est resté classique pendant bien longtemps. Celui qui a été donné antérieurement par L. Beale est beaucoup plus exact.

La substance périphérique, dans laquelle se forment les vacuoles dont il vient d'être question, correspond à l'écorce fibrillaire dans laquelle vient se perdre la fibre spirale (voy. p. 641). Le noyau ganglionnaire n'occupe pas le centre de la cellule; en général, il est placé à son sommet, c'est-à-dire au pôle opposé à celui qui correspond à l'entrée des fibres nerveuses. Ce noyau est relativement volumineux et contient un ou deux gros nucléoles.

Quand, au lieu de considérer une seule cellule ganglionnaire, on examine un ganglion du sympathique incomplètement dissocié, on est frappé de la différence de volume des cellules et du rapport qu'il y a entre le diamètre du noyau et celui de la cellule correspondante. Cette différence dans la grandeur des cellules et ce rapport entre le volume du noyau et celui

de la cellule constituent des caractères importants des cellules nerveuses.

Les cellules des ganglions sympathiques des mammifères doivent d'abord être étudiées complètement isolées, après que les ganglions ont été fixés au moyen de l'acide osmique. On suivra pour cela les procédés qui ont été indiqués pour la préparation des nerfs, page 557. Il est difficile d'isoler convenablement les cellules qui forment les ganglions sympathiques proprement dits : ganglions cervical supérieur, moyen et inférieur, ganglions thoraciques, lombaires, cœliaques, etc. Tout au contraire, on réussit facilement à dissocier les cellules ganglionnaires qui sont isolées ou par petits groupes entre les fibres du cordon sympathique, au voisinage des ganglions. Le lapin convient parfaitement pour ces recherches, parce que, chez cet animal, surtout quand il est jeune, le tissu conjonctif des nerfs est peu résistant. Chez le lapin, les cellules sympathiques contiennent deux noyaux, comme cela a été observé d'abord par Remak et ensuite par plusieurs histologistes, Schwalbe, entre autres.

Au premier abord, la plupart des cellules sympathiques du lapin paraissent bipolaires (voy. fig. 580) ; en réalité, elles émettent un grand nombre de fibres de Remak à leurs extrémités et quelquefois sur d'autres points de leur surface. Chacune des cellules ganglionnaires correspond à tout un faisceau de fibres de Remak, faisceau formé de fibres qui s'anastomosent de manière à constituer un plexus (voy. p. 575).

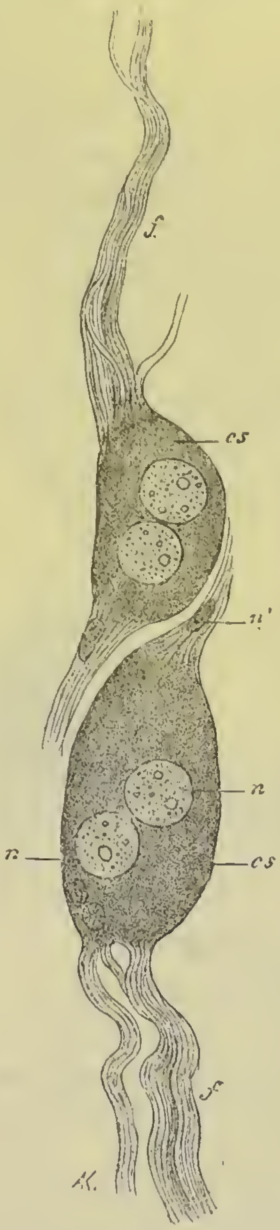


Fig. 580. — Deux cellules ganglionnaires du sympathique du lapin, prises immédiatement au-dessous du ganglion cervical supérieur. Après un séjour de trois heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100, le sympathique a été dissocié, et les cellules dégagées par la dissociation ont été colorées par le picrocarminate; la préparation a été conservée dans la glycérine. — *ff*, fibres nerveuses sans myéline ou fibres de Remak; *cs*, cellule ganglionnaire; *n*, noyau ganglionnaire; *n'*, noyaux des fibres de Remak.

Les fibres de Remak, qui se mettent en rapport avec les cellules sympathiques, possèdent leurs noyaux habituels. On distingue des noyaux analogues à la surface de la masse cellulaire, probablement au-dessous d'une capsule que l'on ne voit pas après l'action de l'acide osmique. Pour reconnaître la capsule et en même temps apprécier certains détails de structure qui échappent dans les préparations précédemment décrites, il est bon de procéder de la manière suivante : un ganglion sympathique du lapin, le ganglion cervical supérieur, par exemple, est plongé

dans le liquide de Müller; vingt-quatre heures après, on le porte dans l'alcool ordinaire, où on le laisse également vingt-quatre heures; on y pratique alors des coupes longitudinales que l'on colore au picrocarminate. Ces coupes sont lavées, placées sur une lame de verre, traitées par le mélange de glycérine, d'acide formique et d'acide picrique (voy. p. 429); on recouvre d'une lamelle et on presse sur celle-ci à plusieurs reprises avec l'aiguille, afin d'obtenir une dissociation par écartement.

Dans ces préparations, les noyaux ganglionnaires sont colorés en rose, et l'on aperçoit, autour de la cellule, une capsule doublée de noyaux semblables à ceux des fibres de Remak. Au-dessous, se montre la couche fibrillaire. La fibrillation de celle-ci est parallèle à l'axe de la cellule, et, entre les fibrilles, se trouve une substance granuleuse. Le globe ganglionnaire est formé d'une masse plus granuleuse encore. Les deux noyaux ganglionnaires qui occupent ce globe sont plus ou moins éloignés l'un de l'autre. Les fibres de Remak sont nettement fibrillaires, et leurs fibrilles se poursuivent dans l'écorce de la cellule.

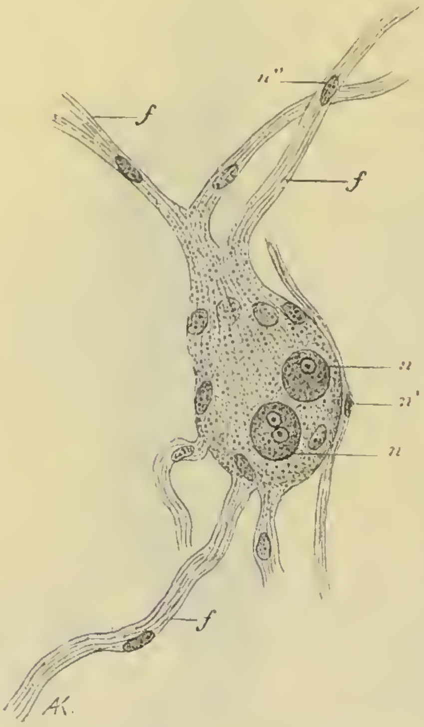


Fig. 581. — Cellule ganglionnaire et fibres nerveuses qui sont en rapport avec elle dans le ganglion cervical supérieur du lapin. Le ganglion a séjourné vingt-quatre heures dans le liquide de Müller, transporté de là dans l'alcool, où il est resté vingt-quatre heures; on a fait ensuite dans le ganglion des coupes parallèles à son axe; ces coupes ont été colorées par le picrocarminate et traitées par un mélange de glycérine, d'acide formique et d'acide picrique. La dissociation a été obtenue par des pressions réitérées, faites sur la lamelle de verre avec l'aiguille. — *ff*, fibres de Remak; *n'n''*, noyaux de ces fibres; *nn*, noyaux ganglionnaires.

Les fibres de Remak se subdivisent et s'anastomosent pour former un plexus beaucoup plus serré dans les ganglions que dans les cordons nerveux; c'est pour cela qu'il est difficile de séparer par la dissociation leurs cellules ganglionnaires.

Pour obtenir de bonnes coupes des ganglions sympathiques chez les différents mammifères, l'homme, le chien, le lapin, etc., il faut faire durcir ces ganglions en les laissant pendant quinze ou vingt jours dans une solution d'acide chromique à 2 ou 3 pour 1000. La solution d'acide chromique est préférable au liquide de Müller et surtout au bichromate d'ammoniaque, qui a l'inconvénient de déterminer la formation d'un grand nombre de vacuoles dans les fibres de Remak et dans l'écorce des cellules ganglionnaires. Les coupes sont colorées au moyen du picrocarminate et montées dans le baume après avoir été convenablement déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de girofle.

Si l'on veut rendre très nets les noyaux ganglionnaires et les noyaux capsulaires, il faut, après avoir soigneusement lavé les coupes, les traiter par un

mélange, à parties égales, d'alcool et d'acide formique. On les soumet ensuite à l'action successive de l'alcool ordinaire et de l'alcool absolu ; on éclaircit par l'essence de girofle, etc. On peut aussi employer la double coloration par le carmin et l'hématoxyline (voyez plus loin le paragraphe consacré à la molle épinière).

Chez l'homme, le chien et plusieurs autres mammifères, les cellules ganglionnaires apparaissent très nettement dans ces coupes. Généralement, elles ont subi un certain retrait dans l'intérieur de leur capsule et semblent franchement étoilées.

En résumé, les cellules nerveuses des ganglions sympathiques des mammifères sont multipolaires ; de leurs pôles partent des fibres de Remak. Toutes les fibres qui en émanent présentent les mêmes caractères ; il n'y a donc pas lieu de leur considérer, comme aux cellules des centres, des prolongements protoplasmiques et un prolongement cylindraxile.

Les cellules nerveuses sympathiques sont entourées d'une capsule doublée de noyaux ; elles présentent une écorce fibrillaire et un globe ganglionnaire.

Les ganglions cérébro-spinaux des mammifères contiennent des cellules unipolaires ; les cellules du cerveau et de la moelle épinière sont multipolaires. Les cellules sympathiques ont donc avec les cellules des centres cérébro-spinaux un caractère commun, celui de la multipolarité.

Les cellules du cerveau, du cervelet et de la moelle épinière n'ont pas de capsule, tandis que les cellules des ganglions spinaux présentent une capsule. Nous chercherons la raison de cette disposition dans le chapitre qui sera consacré à l'étude des ganglions spinaux.

Les cordons sympathiques, leurs branches périphériques, leurs rameaux communiquants, ont tous une gaine lamelleuse. Cette gaine s'étale et se poursuit à la surface des ganglions sympathiques, qui se trouvent ainsi munis d'une gaine lamelleuse, exactement comme les faisceaux nerveux qui en émanent.

Le tissu conjonctif intrafasciculaire des cordons sympathiques ne diffère pas de celui des nerfs cérébro-spinaux. Dans les ganglions, on observe des cloisons connectives résistantes qui donnent à la charpente du ganglion une très grande solidité et en rendent la dissociation difficile.

Les vaisseaux sanguins des ganglions sympathiques des mammifères présentent une disposition très intéressante d'une observation facile[1]. Pour la reconnaître, il suffit, chez un lapin dont on a injecté tout le système vasculaire (voy. p. 110), de recueillir une portion du cordon thoracique ou lombaire, en choisissant les régions à petits ganglions, de la traiter par l'alcool ordinaire, l'alcool absolu, de l'éclaircir au moyen de l'essence de girofle et de la monter dans le baume du Canada. Tandis que le réseau vasculaire du cordon sympathique ne diffère pas de celui des faisceaux

1. *Des sinus veineux des ganglions sympathiques* (Acad. des Sc., Comptes rendus, 1888).

nerveux ordinaires (voy. p. 587), celui des ganglions se fait remarquer par le développement de son système veineux.

Les artères sont petites, se divisent, se subdivisent et viennent se perdre dans un réseau capillaire dont les mailles, assez larges, renferment chacune plusieurs cellules ganglionnaires.

Les veines, non seulement sont très volumineuses, mais elles sont tortueuses, variqueuses, et se terminent le plus souvent par des culs-de-sac, dans lesquels viennent se jeter quelques-unes des branches efférentes du

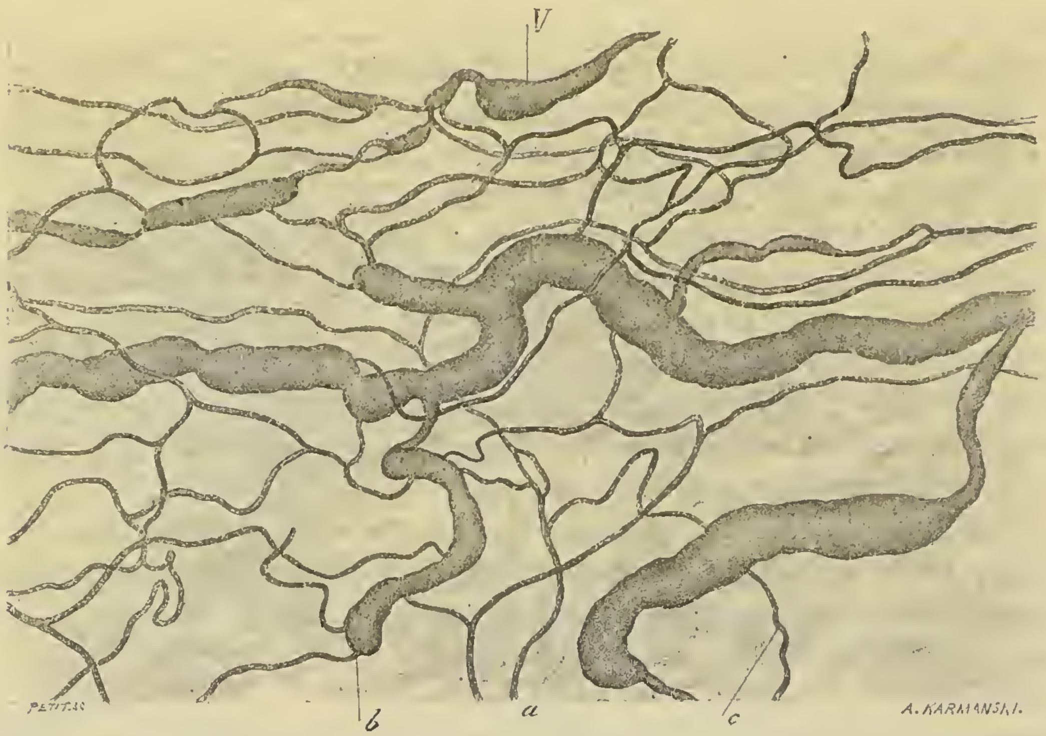


Fig. 582. — Appareil vasculaire du troisième ganglion sympathique thoracique du lapin. Tous les vaisseaux sanguins de l'animal ont été injectés d'une masse de bleu de Prusse, additionnée de gélatine. Après refroidissement de la masse injectée, le cordon sympathique thoracique a été enlevé avec soin, placé dans le liquide de Müller et, après un séjour de vingt-quatre heures dans ce réactif, lavé et monté dans la résine dammare, après avoir été déshydraté par l'alcool et éclairci par l'essence de girofle. — *a*, artérioles; *V*, veines volumineuses constituant les sinus veineux du ganglion; *b*, un vaisseau du réseau capillaire venant se jeter dans le renflement terminal d'une veine; *c*, vaisseau capillaire.

réseau capillaire. Les autres de ces branches aboutissent à d'autres points du plexus veineux.

La terminaison des veines par des culs-de-sac est un fait qui n'est pas étranger aux lecteurs de cet ouvrage. Déjà, à propos de l'appareil vasculaire du grand épiploon du lapin et à propos des vaisseaux des papilles de la peau et des papilles du goût, cette disposition a été signalée. Elle a une importance morphologique sur laquelle il est inutile de revenir ici.

Le développement considérable de l'appareil veineux des ganglions sympathiques rappelle la disposition si bien étudiée et si connue des sinus de la dure-mère et du plexus veineux rachidien. Ces sinus et ces plexus paraissent destinés à favoriser le départ rapide et facile du sang qui a été utilisé dans les centres cérébro-spinaux. En effet, dans ces organes à fonctions actives

et délicates, il importe, non seulement qu'il arrive du sang frais en abondance, mais encore que le sang altéré par les échanges organiques soit rapidement enlevé. Les grosses veines béantes des ganglions sympathiques ne paraissent-elles pas, en petit, les analogues des sinus de la dure-mère? Aussi les désignerai-je sous le nom de *sinus veineux* des ganglions sympathiques.

Les ganglions sympathiques sont donc de petits cerveaux, non seulement parce qu'ils contiennent des cellules ganglionnaires, dont la forme étoilée rappelle celle que l'on observe dans les centres nerveux proprement dits, mais encore par la disposition de leur appareil vasculaire. Le développement de cet appareil, surtout des veines qui entrent dans sa composition, conduit à penser que les ganglions sympathiques ont des fonctions très actives. Des expériences physiologiques, sur lesquelles je ne puis pas insister ici, ont établi que ce sont des centres automoteurs d'une grande puissance. Qu'il suffise de rappeler le travail du cœur, de l'estomac et des intestins.

Les cordons et les ganglions sympathiques, pas plus que les nerfs cérébro-spinaux, ne paraissent renfermer de vaisseaux lymphatiques proprement dits (voy. p. 589). Lorsque l'on pique dans un ganglion sympathique du chien, du chat, du lapin, etc., pour l'injecter au bleu de Prusse, il arrive de deux choses l'une : ou la masse d'injection remplit le système vasculaire, la canule ayant pénétré dans une des grosses veines du ganglion; ou bien, le liquide coloré reflue le long de la canule jusqu'à la capsule ou gaine lamelleuse du ganglion, remplit le système caverneux que forment, en s'anastomosant, les lames de cette gaine, et le ganglion paraît teinté de bleu sur toute sa surface. Dans ce cas, quelques lymphatiques du tissu conjonctif périfasciculaire peuvent être injectés. Il peut se faire qu'il y ait, en même temps, à la suite de la piqûre du ganglion, injection vasculaire et injection de la gaine lamelleuse.

On juge du résultat de l'opération lorsque, après avoir fait durcir le ganglion par l'action successive du liquide de Müller et de l'alcool, on y a pratiqué des coupes dans différentes directions.

Ayant introduit dans la technique histologique la méthode des injections interstitielles, pour l'étude du tissu conjonctif, je l'ai employée ensuite pour la préparation des ganglions spinaux des mammifères, où j'ai pu, par ce moyen, déterminer d'une manière exacte les rapports des cellules ganglionnaires avec les tubes nerveux des racines sensitives.

On ne saurait appliquer la même méthode aux cellules sympathiques, l'injection interstitielle ne remplissant pas des lacunes interstitielles, comme l'ont cru Axel Key et G. Retzius[1], mais pénétrant directement dans le système vasculaire.

GANGLIONS SPINAUX ET RACINES SPINALES

On sait qu'à chaque racine sensitive est annexé un ganglion. C'est là un

1. *Axel Key et G. Retzius*, Stud. in der Anat. des Nervensyst. u. des Bindegew T. II, p. 147.

caractère essentiel de ces racines dans toute la série des vertébrés. Ce fait, bien que la physiologie ne soit pas arrivée encore à l'expliquer, n'en a pas moins une très grande valeur. Il est vrai que l'on a observé quelquefois des cellules ganglionnaires, en nombre extrêmement restreint, dans les racines antérieures (Schæfer). Cette exception à la règle peut s'expliquer aisément. En effet, quelques-unes des fibres nerveuses de la racine sensitive, après avoir dépassé le ganglion, atteignent la racine motrice et y suivent un trajet ascendant d'abord, puis reviennent sur elles-mêmes et s'engagent dans le nerf mixte. Si ces fibres n'ont pas encore été en rapport avec une cellule nerveuse dans l'intérieur du ganglion, on conçoit qu'elles puissent en présenter quand elles se trouvent au milieu des fibres de la racine motrice.

Le trajet récurrent de quelques-unes des fibres sensitives dans la racine motrice, que l'on peut observer dans des coupes axiales des ganglions spinaux comprenant en même temps la racine sensitive et la racine motrice et faites suivant les méthodes qui seront indiquées plus loin, permet de comprendre comment se produit la sensibilité récurrente, phénomène découvert par Magendie et si vivement discuté ensuite par Claude Bernard et Longet.

On doit commencer l'étude des ganglions spinaux chez les poissons cartilagineux parce que, chez eux, il est très facile, avec un scalpel, d'ouvrir le canal vertébral et de dégager les racines et les ganglions spinaux. Si on enlève ces ganglions et si on les dissocie dans l'eau ou mieux encore dans le sérum iodé faible, on reconnaît sans difficulté que chacune des fibres nerveuses de la racine sensitive se trouve en relation avec une cellule bipolaire, de telle sorte que la fibre nerveuse paraît interrompue par la cellule. Pour faire une bonne observation des cellules bipolaires des plagiostomes, il faut employer la méthode indiquée page 544, méthode qui consiste à faire, dans un de ces ganglions, une injection interstitielle d'acide osmique à 2 pour 100 et à le dissocier ensuite dans le sérum iodé. Cet méthode est extrêmement délicate, parce que le réactif, arrivant en quantité variable sur les éléments, ne les modifie pas tous au même degré. Sur quelques-uns, son action est trop forte, la cellule et le tube nerveux avec lequel elle est en rapport sont trop noircis Sur d'autres, son action est trop faible, la fixation n'est pas produite; mais il y en a qui sont fixés d'une manière suffisante, sans être trop fortement colorés par l'osmium. Ces derniers conviennent pour l'observation des faits que je vais décrire.

Les tubes nerveux des plagiostomes (raies, torpilles, chiens de mer), comme cela a déjà été dit à propos de l'organe électrique de la torpille (voy. p. 599), sont entourés d'une double gaine : la membrane de Schwann, qui suit exactement la forme du tube nerveux et se moule sur les étranglements annulaires, et une seconde gaine, à laquelle j'ai donné le nom de gaine secondaire, qui n'est pas exactement appliquée sur les tubes nerveux et reste cylindrique dans tout son trajet (fig. 585). Ces deux gaines membraneuses existent aussi bien sur les tubes nerveux des racines sensitives que sur les tubes nerveux des autres nerfs. Elles se poursuivent à la surface des cellules ganglionnaires

qui sont placées sur le trajet de ces tubes et leur forment deux capsules, ayant chacune à sa surface profonde des noyaux distincts.

La gaine de myéline est interrompue au niveau de la cellule ganglionnaire. On dirait que cette cellule correspond à un segment interannulaire dépourvu de myéline; mais, comme la cellule du nerf acoustique du brochet (voy. p. 780), elle ne forme pas un segment interannulaire tout entier, elle occupe seulement le milieu d'un segment.

Il n'y a rien à ajouter à ce qui a été dit, p. 544, relativement à la structure du cylindre-axe, à ses rapports avec la cellule ganglionnaire. Le noyau de celle-ci se trouve toujours au voisinage de l'un de ses pôles et peut aussi bien occuper son pôle central que son pôle périphérique (voy. fig. 585).

Les ganglions spinaux des mammifères, comme ceux des poissons, doivent



Fig. 585. — Ganglion spinal de la raie (*Raja batis*) dissocié dans le sérum iodé après avoir été fixé, au moyen d'une injection interstitielle d'acide osmique à 2 pour 100. — *t*, tube nerveux; *E*, étranglement annulaire: *ca*, cylindre-axe dégagé de la gaine de myéline et s'épanouissant pour former la cellule ganglionnaire: *n*, noyau de cette cellule: *g*, gaine secondaire: *g'*, gaine de Schwann épanouie sur la cellule: *a*, noyau de la gaine secondaire.

être étudiés d'abord au moyen de la dissociation, afin d'observer complètement isolés les éléments essentiels qui les composent. Ces éléments étant extrêmement délicats, il importe de les fixer et de les solidifier avant de les soumettre à l'action des aiguilles.

Pour arriver à ce résultat, le réactif par excellence est l'acide osmique. Il convient de l'employer en injection interstitielle. Une seringue de Pravaz étant remplie d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100, on pique dans le ganglion et on y injecte une à deux gouttes de ce liquide. Les parties qui sont au voisinage de la canule présentent presque immédiatement une coloration noire qui diminue à mesure que l'on s'en éloigne.

Pour que cette méthode soit applicable, il faut que le ganglion ait un volume suffisant. Chez les batraciens et les reptiles de nos pays, on ne peut l'employer, et, si l'on veut étudier chez eux les éléments des ganglions spinaux, il faut, après avoir enlevé un de ces ganglions, le dissocier immédia-

tement sur une lame de verre, dans une ou deux gouttes de la solution d'acide osmique; ou bien encore on immerge le ganglion dans la solution d'acide osmique, on l'y laisse quelques minutes et l'on en pratique ensuite la dissociation dans le sérum iodé faible.

La dissociation des ganglions cérébro-spinaux des mammifères donne de meilleurs résultats chez les animaux jeunes, parce que chez eux le tissu connectif est moins résistant; encore convient-il de choisir le lapin, parce que le tissu conjonctif de cet animal est beaucoup moins dense que celui du chien, du chat, de l'homme, etc.

Les cellules ganglionnaires isolées se montrent sous la forme d'un globe assez régulièrement sphérique, entouré d'une capsule doublée de noyaux, ne contenant, en général, qu'un seul noyau ganglionnaire. Il ne s'en dégage qu'une seule fibre nerveuse; ce sont des cellules unipolaires. Dans un même ganglion, le volume des cellules nerveuses est très variable : il y en a de petites, de moyennes et de grosses. Les grosses ont souvent un diamètre deux ou trois fois plus grand que les petites. En général, le volume du noyau ganglionnaire est proportionnel à celui de la cellule correspondante ; c'est-à-dire que les grandes cellules ont de gros noyaux, les petites cellules ont de petits noyaux. C'est là un fait qui paraît spécial aux cellules nerveuses et qui, par conséquent, a une certaine importance.

La capsule, doublée de noyaux, qui enveloppe la cellule ganglionnaire, se poursuit sur le tube nerveux qui en émane, en se confondant avec la membrane de Schwann. La capsule du ganglion peut donc être considérée comme une expansion de cette membrane.

Il est très facile d'isoler, à l'aide de la méthode qui vient d'être indiquée, des cellules ganglionnaires avec les fibres nerveuses qui en partent. Il est beaucoup moins facile d'obtenir des préparations dans lesquelles on puisse observer en même temps les rapports de ces fibres avec la racine sensitive. Cependant on y arrive presque chaque fois, si l'on opère sur des lapins jeunes, âgés de trois mois par exemple, et si l'on a soin de ne pas poursuivre trop loin la dissociation. On reconnaît alors que le tube nerveux efférent de la cellule ganglionnaire, après avoir présenté un premier étranglement et fourni un deuxième segment interannulaire, se met en rapport avec un des tubes de la racine sensitive. L'union du tube efférent de la cellule ganglionnaire et d'une fibre nerveuse de la racine sensitive s'établit toujours au niveau d'un étranglement annulaire en formant ce que j'ai désigné sous le nom de tube nerveux en T (voy. fig. 584); autrement dit, la branche cellulaire ou ganglionnaire du T, après avoir présenté un premier étranglement, au delà duquel elle conserve sa gaine de myéline, atteint la cellule ganglionnaire, passe au-dessous de la capsule en lui abandonnant sa membrane de Schwann et, chose curieuse, munie encore de son enveloppe de myéline, se contourne et se replie avant de se mettre en rapport plus intime avec le globe ganglionnaire. Mais avant de l'atteindre, elle perd complètement sa myéline, de telle sorte que le cylindre-axe est nu, comme dans la cellule bipolaire des ganglions spinaux des poissons, quand la fibre nerveuse pénètre dans la cellule ganglionnaire proprement dite.

Pour bien observer les noyaux de la capsule et le noyau de la cellule nerveuse, il faut les colorer au moyen du picrocarminate d'ammoniaque. Ceux des éléments qui sont fixés par l'acide osmique, sans avoir subi trop fortement l'action de ce réactif, se colorent bien et rapidement, lorsque l'on ajoute au sérum iodé, dans lequel on pratique la dissociation, une quantité même très faible de picrocarminate à 1 pour 100. Pour rendre la préparation persistante, on substitue la glycérine au sérum iodé. Cette substitution doit se faire avec une très grande lenteur, autrement la glycérine qui, comme on le sait, est très hygrométrique, détermine, en les ratatinant, une déformation très grande des cellules ganglionnaires et des fibres nerveuses. On peut employer bien des procédés pour faire pénétrer lentement la glycérine dans une préparation; mais le plus simple consiste à recouvrir de la lamelle, à placer, sur le bord de celle-ci, une goutte d'un mélange à parties égales de glycérine et d'eau distillée et de conserver ensuite la préparation dans une chambre humide pendant vingt-quatre heures, au bout desquelles on laisse évaporer lentement à l'air libre.

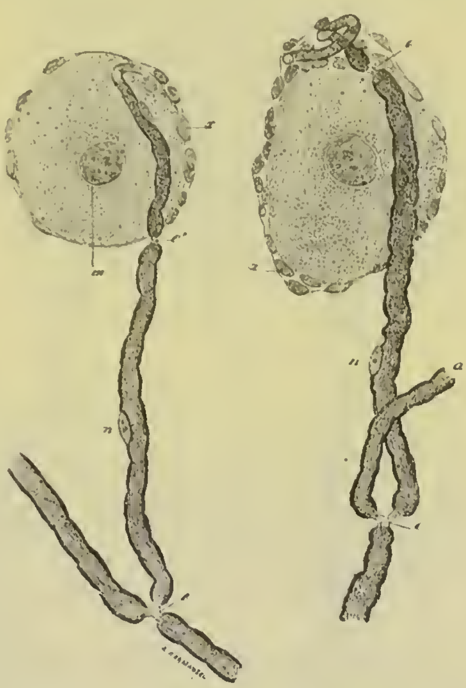


Fig. 584. — Deux cellules nerveuses des ganglions spinaux du lapin, isolées par dissociation après injection interstitielle d'une solution d'acide osmique à 2 pour 100; coloration par le picrocarminate; conservation dans la glycérine. — *e*, étranglement du tube en T; *n*, noyau du premier segment de la branche cellulaire du T; *e'*, premier étranglement de la branche cellulaire; *m*, noyau ganglionnaire; *x*, noyau de l'épithélium sous-capsulaire.

La dissociation est nécessaire pour observer, dans une même préparation, les rapports de la cellule ganglionnaire avec les fibres de la racine sensitive. Il paraît impossible, en effet, de voir, dans une coupe du ganglion, une fibre nerveuse partant d'une cellule ganglionnaire arriver sur une fibre sensitive, à cause du trajet sinueux de la branche cellulaire du tube en T. Les dessins de coupes de ganglions où ces rapports sont figurés sont de simples schémas[1].

Mais si les coupes ne permettent pas de suivre la fibre nerveuse efférente d'une cellule ganglionnaire dans tout son trajet, elles peuvent fournir des renseignements intéressants que ne sauraient donner les préparations faites par dissociation, après l'action de l'acide osmique. Des ganglions spinaux du chien, du lapin, du chat ou de tout autre mammifère, durcis par un séjour de plusieurs mois dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, sont placés dans l'eau pendant plusieurs jours, afin d'enlever l'excès de bichromate, puis dans l'alcool pour compléter le durcissement. Après les avoir inclus dans le mélange de cire et d'huile, on y fait des

1. Voyez les figures des ganglions cérébro-spinaux de l'homme dans le *Traité d'histologie* de Leydig et dans celui de Frey.

coupes passant par l'axe du ganglion, de la racine sensitive et de la racine motrice correspondantes. Ces coupes, colorées par le picrocarminate et montées dans la résine dammare après avoir été déshydratées par l'alcool et éclaircies par l'essence de girofle, montrent très nettement les cylindres-axes colorés en rouge et dans lesquels on peut observer des bifurcations correspondant aux tubes en T. Ces cylindres-axes eux-mêmes ont la forme d'un T auquel il y a lieu de considérer trois branches. Deux de ces branches correspondent au cylindre-axe d'un tube nerveux de la racine sensitive; la troisième, qui est perpendiculaire aux premières, ou fait avec chacune d'elles un angle qui n'est pas tout à fait droit, correspond au tube nerveux efférent d'une cellule ganglionnaire. Or, son diamètre (voy. fig. 585) étant toujours supérieur à celui des deux autres branches du T, on est conduit à supposer que le cylindre-axe du tube efférent de la cellule qui est en continuité avec les deux autres branches est, en réalité, constitué par ces deux branches repliées et associées pour se poursuivre ensemble jusqu'à la cellule ganglionnaire. De la sorte, la cellule unipolaire des ganglions spinaux des mammifères serait l'analogue de la cellule bipolaire des ganglions spinaux des poissons.



Fig. 585. — Deux tubes nerveux en T, observés dans une coupe d'un ganglion lombaire du chien, faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque, colorée par le picrocarminate et conservée dans la résine dammare. — *a*, branche centrale du T; *e*, sa branche périphérique; *c*, sa branche cellulaire.

Si nous comparons maintenant la cellule ganglionnaire spinale des mammifères à la cellule ganglionnaire spinale des poissons, nous arrivons à admettre qu'elle correspond, comme celle-ci, à la partie centrale d'un segment interannulaire. Les noyaux qui doublent la capsule de la cellule sont donc des équivalents du noyau du segment interannulaire; seulement, au lieu d'un seul noyau, on en observe un très grand nombre, et de plus, ces noyaux ne sont pas compris dans une lame protoplasmique commune à tous, car il est démontré depuis longtemps, par les recherches intéressantes de Fraentzel[1],

1. *O. Fraentzel*, Beitrag zur Kenntniss von Structur der spin. u. symp. Ganglienzellen, *Arch. de Virchow*, 1867, t. XXXVIII, p. 549.

qu'à chaque noyau correspond une cellule épithéliale polygonale, dont les limites peuvent être mises en évidence au moyen de l'imprégnation d'argent.

On arrive facilement à montrer l'épithélium qui double la capsule des ganglions spinaux, en faisant dans ces ganglions une injection interstitielle de nitrate d'argent à 3 pour 1000. Le ganglion injecté est ensuite dissocié dans l'eau distillée, les fragments obtenus ainsi sont exposés à la lumière et montés en préparation dans la glycérine ou bien dans le baume du Canada, après avoir été déshydratés par l'alcool et éclaircis par l'essence de girofle.

En examinant les coupes des ganglions spinaux faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque (voyez la page précédente), on sera frappé par plusieurs faits :

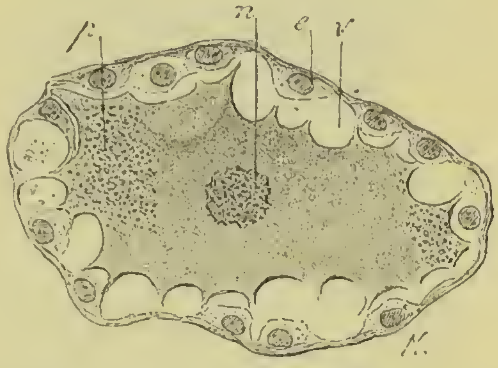


Fig. 586. — Cellule nerveuse d'un ganglion lombaire du chien, observée dans une coupe faite après durcissement du ganglion par le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, colorée par le picrocarminate et montée dans la résine dammare. *n*, noyau de la cellule nerveuse; *p*, amas pigmentaire; *v*, vacuole; *e*, épithélium sous-capsulaire.

1° Les cellules ne sont pas répandues d'une manière uniforme dans tout le ganglion; il y a lieu de les distinguer en marginales et en centrales. Les marginales, en beaucoup plus grand nombre, sont serrées les unes à côté des autres.

2° On constate, plus facilement encore dans les coupes que dans les préparations obtenues par dissociation, la différence entre le diamètre des cellules ganglionnaires et le rapport entre le volume de la cellule et celui du noyau

3° Un dernier fait mérite de fixer l'attention : un grand nombre de cellules ganglionnaires, sous l'influence du bichromate d'ammoniaque, ont subi une rétraction plus ou moins considérable dans l'intérieur de leurs capsules; elles se montrent alors sous la forme de corps extrêmement irréguliers, présentant des pointes et des dépressions, et leur substance est condensée; aussi se colorent-elles beaucoup plus vivement par le carmin que celles qui n'ont pas subi cette rétraction. Le noyau ganglionnaire ne peut plus être distingué, ou il apparaît sous la forme d'un corps vague et irrégulier.

Dans la même coupe, on verra, à côté les unes des autres, des cellules ganglionnaires dont la forme est intégralement conservée, qui remplissent leurs capsules et qui renferment un noyau d'une admirable netteté; des cellules fortement rétractées dans l'intérieur de leurs capsules, très irrégulières de contours, vivement colorées par le carmin et dans l'intérieur desquelles on n'aperçoit plus le noyau; puis, à côté d'elles, des cellules présentant des états d'altération intermédiaires.

Le retrait des cellules ganglionnaires dans l'intérieur de leur capsule n'est pas le résultat de l'action directe du réactif qui agirait sur elles comme un corps hygrométrique, la glycérine par exemple, pour leur enlever de l'eau. S'il en était ainsi, le changement de forme de la cellule serait tout

autre : au lieu de ces dépressions festonnées, on y observerait simplement une diminution de volume, la forme générale restant la même.

En observant les cellules qui présentent la plus petite déformation, on reconnaît, sans peine, que celle-ci est liée à la présence de vacuoles plus ou moins rapprochées, plus ou moins grandes, qui, s'étant développées dans leur couche corticale, se sont avancées dans le globe ganglionnaire et s'y sont fait une place en comprimant sa substance.

Comment se fait-il qu'un petit ganglion spinal, plongé dans une solution de bichromate d'ammoniaque, dont tous les éléments sont, par conséquent, soumis aux mêmes influences, renferme, les unes à côté des autres, des cellules modifiées d'une manière si différente? C'est là un fait que l'on ne saurait expliquer encore aujourd'hui, et sur lequel il importe cependant d'insister, parce qu'on le verra se reproduire dans la moelle épinière, le cerveau, le cervelet, etc., c'est-à-dire dans tous les organes contenant des cellules ganglionnaires.

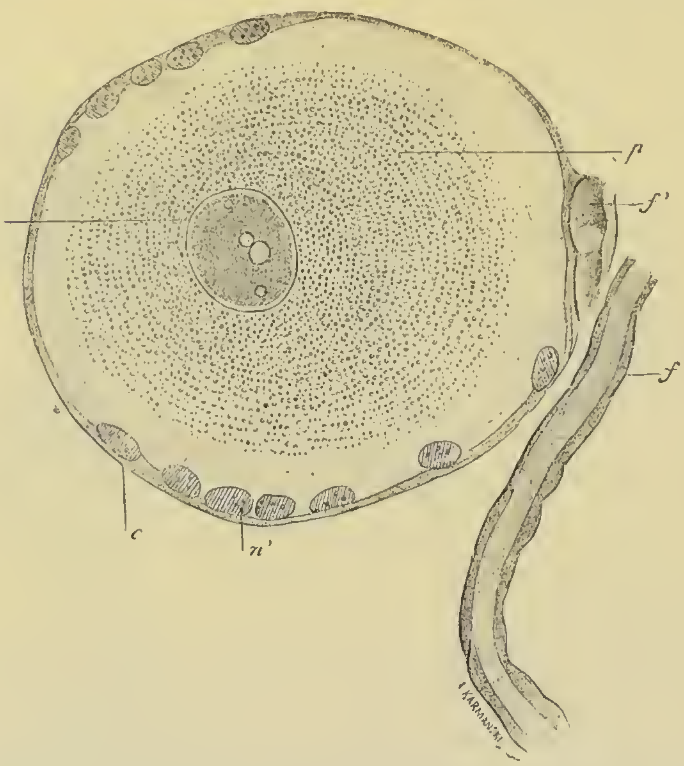


Fig. 587. — Cellule nerveuse d'un ganglion lombaire du chien, observée dans une coupe faite après durcissement du ganglion par le bichromate d'ammoniaque; coloration par le picrocarminate. — n, noyau ganglionnaire contenant plusieurs nucléoles; n', noyaux des cellules épithéliales de la capsule; c, capsule; f et f', coupe de la même fibre nerveuse, branche cellulaire du T, se terminant dans la cellule.

Si l'on examine, à l'aide d'un fort grossissement, une cellule des ganglions spinaux qui n'a pas subi de retrait, la préparation étant conservée dans la glycérine au lieu d'être montée dans le baume du Canada ou la résine dammare, on est frappé de la structure que présente le globe ganglionnaire; on y voit des zones concentriques formées par des granulations (voy. fig. 587). Dans les grosses cellules des cornes antérieures de la moelle épinière (voyez plus loin), on observe des stries analogues; mais, au lieu de former des couches circulaires, elles se trouvent dans la direction des prolongements protoplasmiques et du prolongement cylindraxile.

Lorsqu'au lieu du bichromate d'ammoniaque on emploie l'acide chromique à 2 pour 1000, il faut beaucoup moins de temps pour obtenir un durcissement convenable du ganglion spinal, et les coupes ne montrent plus la même irrégularité de forme des cellules ganglionnaires. Toutes sont retrac-

tées dans l'intérieur de leurs capsules; mais elles le sont à peu près d'une manière régulière et de la même quantité. Ces coupes, après qu'elles ont été colorées par le picrocarminate et montées dans le baume du Canada, fournissent des préparations d'une grande élégance. On peut préparer ainsi les ganglions du chien, de la grenouille, etc.

La capsule et le tissu conjonctif des ganglions spinaux varient beaucoup suivant les espèces et suivant l'âge des animaux. Chez le chien, la capsule est très épaisse et les cloisons connectives du ganglion sont nombreuses et résistantes; chez le lapin, et surtout chez le lapin jeune, la capsule est très mince et les cloisons connectives insignifiantes; aussi, après les injections interstitielles, la dissociation réussit-elle très bien chez ce dernier animal, tandis qu'elle ne donne que des résultats insuffisants chez le chien.

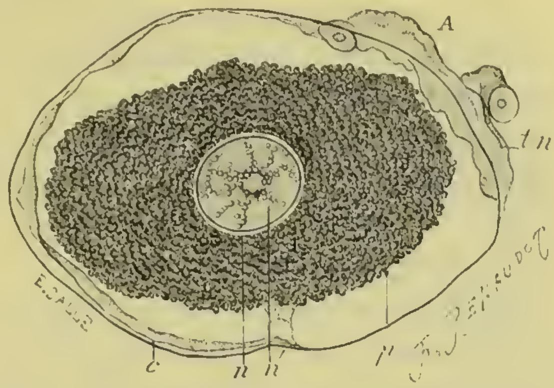


Fig. 588. — Cellule nerveuse d'un ganglion lombaire du lapin, observée dans une coupe faite après durcissement par l'acide chromique à 2 pour 1000, colorée par le picrocarminate et montée dans la résine dammare. — *n*, noyau ganglionnaire; *n'*, nucléole de ce noyau; *p*, protoplasma de la cellule ganglionnaire; *tn*, tube nerveux contourné pénétrant dans la capsule; *c*, épithélium sous-capsulaire.

Pour étudier les vaisseaux sanguins des ganglions spinaux, il faut d'abord injecter tout le système vasculaire d'un lapin, en suivant les indications qui ont été données p. 110. Les ganglions fournissent alors des préparations dans lesquelles on reconnaît facilement la disposition des vaisseaux. Dans les racines et dans le nerf mixte qui provient de la confluence de la racine sensitive et de la motrice, cette disposition ne diffère pas de celle qui a été décrite dans les cordons nerveux en général (voy. p. 587) ; mais, dès qu'apparaissent les cellules ganglionnaires, le réseau vasculaire acquiert une autre forme et une bien plus grande importance. Chaque cellule paraît comprise dans une maille du réseau capillaire; aussi, les mailles de ce réseau sont-elles arrondies et relativement petites, relativement surtout au réseau capillaire des ganglions sympathiques, dont les mailles sont beaucoup plus grandes et contiennent toujours plusieurs cellules ganglionnaires.

Chez la grenouille, les ganglions spinaux sont moins vasculaires que chez les mammifères. Les mailles du réseau capillaire qu'on y observe après l'injection des vaisseaux contiennent plusieurs cellules ganglionnaires.

Les capillaires sont toujours en dehors de la capsule des cellules ganglionnaires; jamais, dans les injections faites par un histologiste sachant tant soit peu son métier, la masse d'injection ne pénètre dans l'intérieur de ces capsules. Quand cela arrive, cela tient à ce que la masse a été mal préparée ou poussée par une main maladroite. C'est un phénomène de diffusion semblable à celui qui se produit d'une manière analogue dans d'autres organes.

Les veines des ganglions spinaux n'ont pas la disposition des veines des ganglions sympathiques : elles n'ont pas ce gros calibre, ces varicosités, ces bourgeons décrits plus haut (voy. p. 795). Ce sont des veines ordinaires.

Chez la grenouille, on trouve, au niveau de chaque ganglion spinal, le coiffant pour ainsi dire, un appareil vasculaire constitué par des veines sinueuses qui s'anastomosent pour former un plexus complexe. C'est dans ce plexus que vont se jeter les veines du ganglion. Cet appareil veineux correspond aux sinus de la dure-mère et aux plexus veineux rachidiens des mammifères, et son rôle paraît être celui que nous avons assigné aux appareils de ce genre, lorsque nous avons décrit les veines des ganglions sympathiques (voy. p. 795).

En somme, les ganglions spinaux ont une riche circulation sanguine, ce qui indique que leurs fonctions sont très actives. Pourtant, on ne les connaît pas encore. Les racines sensitives sont au moins aussi sensibles au-dessus du ganglion qu'au-dessous de celui-ci ; elles sont également sensibles, quand on les a séparées de leurs ganglions par une incision. Les cellules de ces ganglions n'assurent donc pas la sensibilité des fibres qui sont en rapport avec elles. Il convient même d'ajouter qu'on trouve généralement les racines postérieurs plus sensibles que les nerfs mixtes qui en proviennent. On est donc conduit à supposer que les cellules ganglionnaires agissent sur les fibres avec lesquelles elles sont en rapport, non pas pour aiguiser leur sensibilité, mais pour l'atténuer. Nous pourrions répéter ici ce que nous avons dit des cellules ganglionnaires qui sont annexées au nerf acoustique et aux terminaisons du nerf optique dans la rétine (voy. p. 785).

L'action trophique que les cellules ganglionnaires exercent sur les fibres qui sont en relation avec elles, action découverte et si bien établie par Waller, ne doit pas, pour s'exercer, exiger une très grande activité physiologique, une grande dépense de matériel nutritif et, par conséquent, une grande quantité de sang. La vascularité remarquable des ganglions rachidiens paraît donc relative à une autre fonction, celle dont nous venons de parler et qui consisterait à régler la sensibilité des fibres nerveuses de manière à assurer la précision de la sensation. Il semble que, sans cette fonction, sous l'influence de toute excitation, la douleur se ferait sentir avec une si grande facilité que le tact ne pourrait se produire que dans des limites trop étroites.

Les ganglions spinaux seraient donc des organes régulateurs de la sensibilité générale, et les cellules qui les composent, ayant une action centrifuge, le ganglion étant considéré comme un centre, se rapprocheraient, par là, des cellules motrices. Du reste, l'action centrifuge des cellules des ganglions spinaux est absolument démontrée par les expériences que l'on fait sur leur fonction trophique, puisque, si l'on coupe une racine sensitive entre le ganglion et la moelle, le segment de cette racine qui est en rapport avec le ganglion ne dégénère pas plus que les fibres nerveuses qui ont traversé le ganglion pour se rendre à la périphérie.

Les racines sensitives et les racines motrices ont la structure des nerfs périphériques. Il n'y a pas lieu de leur appliquer des méthodes spéciales. On en fera des préparations par dissociation et par coupes, en suivant les indications qui ont été données pour les nerfs périphériques (voy. p. 549 et suiv.).

Dissociés après l'action de l'acide osmique, les tubes nerveux qui les composent montrent des étranglements annulaires et des segments interannulaires, et par conséquent possèdent une gaine de Schwann. On y observe aussi, chez le chien, quelques fibres de Remak; mais elles sont en très petit nombre. Il m'est arrivé même de dissocier une racine tout entière sans en trouver une seule.

Il y a, également chez le chien, entre les racines sensitives et les racines motrices, des différences de structure que l'on pourra apprécier facilement dans les coupes de ces racines faites perpendiculairement à leur direction, après les avoir fait durcir par le bichromate d'ammoniaque ou l'acide chromique (voy. p. 564).

On a dit que, dans les racines motrices, les tubes nerveux étaient plus gros que dans les sensitives; cela n'est pas tout à fait exact. En réalité, il y a, dans les racines sensitives, d'aussi gros tubes que dans les motrices; il y a dans les motrices des tubes aussi fins que dans les sensitives; mais les tubes fins sont plus nombreux dans les sensitives et les gros dans les motrices.

Entre les tubes nerveux des racines, il existe du tissu conjonctif intrafasciculaire ordinaire (voy. p. 585), caractérisé par des fibres onduleuses fines et des cellules aplaties munies de crêtes d'empreinte. On y observe aussi des vaisseaux sanguins de différents ordres, semblables à ceux des autres nerfs périphériques et qui sont également revêtus de cellules connectives aplaties et moulées sur leur surface.

CHAPITRE XXI

MOELLE ÉPINIÈRE

Il faut commencer l'étude de la moelle épinière par l'examen d'une bonne coupe transversale de cet organe. La moelle enlevée avec soin, chez l'homme, le singe, le chien ou tout autre mammifère, doit être divisée en segments d'un centimètre à un centimètre et demi au plus, et suspendue dans le liquide durcissant : acide chromique ou bichromates alcalins.

Si l'on veut obtenir un bon durcissement, au lieu de prendre la moelle tout entière, il vaudra mieux en choisir un segment dans la région cervicale, un segment dans la région dorsale, un segment dans la région lombaire, et les suspendre tous les trois dans un flacon d'un litre dans lequel on a mis la solution durcissante : acide chromique à 2 pour 1000, bichromate

de potasse ou d'ammoniaque à 2 pour 100, liquide de Müller (voy p. 74). Le durcissement est plus ou moins rapide suivant la solution employée; il est extrêmement lent dans le bichromate d'ammoniaque, un peu moins lent dans le bichromate de potasse, beaucoup plus rapide dans l'acide chromique. Il faut attendre au moins dix à douze mois le durcissement de la moelle dans le bichromate d'ammoinaque.

Une bonne méthode est celle qui a été conseillée par Deiters : immerger la moelle, d'abord dans la solution de bichromate de potasse — on peut employer le bichromate d'ammoniaque — et la porter ensuite dans l'acide chromique pour compléter le durcissement. L'avantage de cette méthode consiste surtout en ce que les fragments de la moelle qui sont imbibés de bichromate alcalin ne subissent plus, sous l'influence de l'acide chromique, cette condensation de leur surface qui empêche l'action convenable du réactif au delà d'une mince couche. Un séjour de deux à trois semaines dans le bichromate alcalin et quelques semaines dans l'acide chromique suffit généralement pour produire un durcissement de la moelle convenable pour la pratique des coupes[1].

La température du bain dans lequel la moelle est placée joue un rôle important. On avait déjà remarqué que le durcissement se produit plus vite en été qu'en hiver. Dans ces dernières années, on a activé le durcissement en plaçant la solution de bichromate contenant la moelle dans une étuve à une température de 30 à 40 degrés[2].

Pour reconnaître si le durcissement de la moelle dans le bichromate d'ammoniaque ou dans l'acide chromique est suffisant, on y pratique, à main levée, des coupes transversales relativement grossières que l'on met dans l'eau. Si elles y restent bien planes, il est inutile de prolonger le séjour de la moelle dans la solution durcissante. Si elles se gauchissent, c'est-à-dire s'il s'y produit des plis, sous l'influence de l'eau, c'est que le durcissement n'est pas suffisant. Il faut alors replacer le fragment de moelle dans le liquide durcissant. L'irrégularité que prend, dans l'eau, une coupe transversale de moelle, quand le durcissement n'est pas suffisant, provient de ce que la substance grise qui en occupe le centre, durcissant plus vite que la substance blanche, celle-ci se laisse encore gonfler par l'eau, alors que la première ne subit plus son influence.

Si la solution durcissante est très abondante, par exemple un litre pour un fragment de moelle ayant un à deux centimètres de longueur seulement, il n'est pas absolument nécessaire de la renouveler; cependant il vaudra mieux la changer, au moins une fois. Mais, si l'on a placé une moelle, tout entière, dans un bocal contenant le réactif, comme on le fait d'habitude pour les recherches anatomo-pathologiques, on n'obtiendra un durcissement convenable qu'en renouvelant un grand nombre de fois la solution chromique.

1. *Deiters*, Untersuch. über Gehirn und Rückenmark, 1865.

2. Voyez à ce sujet : *Weigert*, Ueber Schnellhärtung der nervösen Centralorgan. (*Centralbl. f. med. Wiss.*, 1882, p. 819.)

Lorsque l'on a constaté, au moyen de l'épreuve indiquée un peu plus haut, que la moelle a séjourné assez longtemps dans le liquide durcissant, on la laisse dégorger dans l'eau pendant un ou deux jours et on la place dans l'alcool ordinaire avant d'y faire des coupes. Ces coupes peuvent être exécutées à main libre ou à l'aide d'un microtome. Le petit microtome indiqué page 81 est suffisant pour faire les coupes de moelle. Du reste, c'est pour exécuter les coupes de cet organe que je l'ai fait construire. Depuis, on a imaginé un grand nombre de microtomes généralement compliqués; mais, pour les coupes de la moelle épinière et pour les coupes des nerfs, ils ne sont pas préférables.

Les coupes sont ensuite placées dans l'eau, transportées dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100. Bien qu'on ait dit le contraire, le picrocarminate à 1 pour 100 est supérieur au carmin ammoniacal ou au carmin neutre pour colorer les coupes de la moelle épinière. Lorsqu'elles y ont séjourné une demi-heure, une heure ou quelques heures, cela dépend de la méthode qui a été suivie pour durcir la moelle, elles sont généralement bien colorées.

Pour terminer les préparations, on lave à l'eau, on traite par l'alcool ordinaire, l'alcool absolu, on éclaircit dans l'essence de girofle et on monte dans le baume du Canada ou la résine dammare. Cette méthode est la plus simple, c'est celle qu'on devra employer tout d'abord.

Cependant on peut faire des préparations bien plus démonstratives en la modifiant légèrement, et sans augmenter beaucoup les manipulations. Lorsque la moelle est convenablement durcie par la méthode de Deiters, c'est-à-dire par l'action successive d'un bichromate alcalin et de l'acide chromique, on en enlève, au moyen du rasoir et par des sections bien franches, un segment ayant 5 millimètres de hauteur à peu près; on le place dans l'eau pendant vingt-quatre à quarante-huit heures; puis on le porte dans un petit flacon contenant une solution de picrocarminate à 1 pour 100. Là encore, le picrocarminate est supérieur au carmin ammoniacal ou au carmin neutre, parce qu'il pénètre beaucoup mieux dans les tissus. Au bout de vingt-quatre ou quarante-huit heures, l'excès de picrocarminate est enlevé par un lavage prolongé, et le segment de moelle est placé dans l'alcool.

On y fait alors, à partir d'une des surfaces de section, une série de coupes parallèles dont les premières sont fortement colorées, tandis que les dernières peuvent ne présenter qu'une coloration marginale. Cela dép nd du nombre que l'on en fait, et de l'épaisseur qu'on leur donne. Parmi ces coupes, il y en a dont la coloration est tout à fait réussie pour la démonstration. Quelques-unes, par exemple, ont la substance grise centrale rouge, tandis que la substance blanche est restée à peu près incolore. Cela tient à ce que, même après l'action du bichromate alcalin et de l'acide chromique, la substance grise est plus perméable que la blanche.

Le procédé de la coloration en masse des tissus a d'abord été appliqué à l'étude des embryons. On l'a employé ensuite pour préparer les petits

animaux mous. Forel[1] l'a préconisé pour les préparations des centres nerveux.

La figure 589 représente une coupe transversale de la région dorsale de la moelle épinière d'un petit singe macaque (*Macacus cynicus*), grossie 25 fois. J'ai fait dessiner cette moelle, parce qu'elle ressemble beaucoup à celle de l'homme et que sa coupe transversale a une étendue assez petite pour qu'un dessin de cette coupe à 25 diamètres rentre dans la page de cet ouvrage.

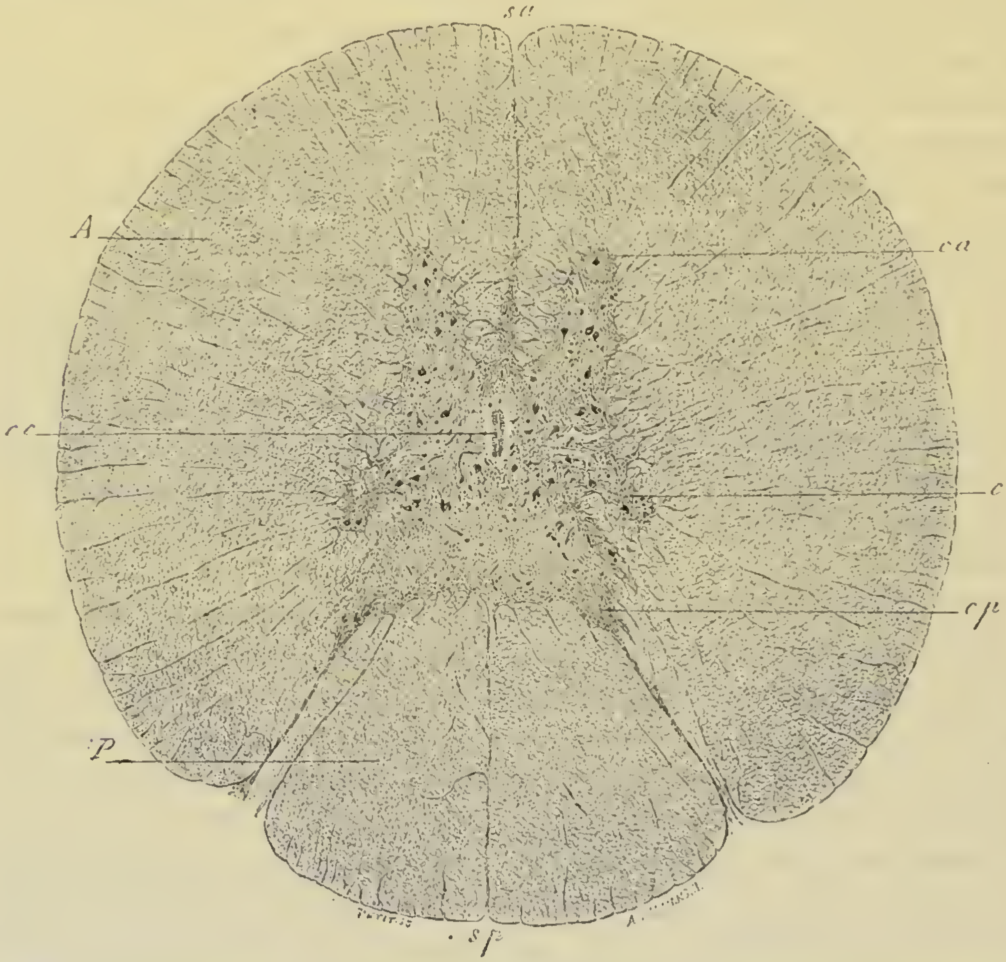


Fig. 589. — Coupe transversale de la moelle épinière du macaque dans la région dorsale, faite après durcissement par l'action successive du bichromate d'ammoniaque et de l'acide chromique; coloration en masse par le picrocarminate. La coupe est conservée dans la résine dammare. — *sa*, sillon antérieur; *sp*, sillon postérieur; *ca*, corne antérieure; *cp*, corne postérieure; *cl*, corne latérale ou colonne de Clarke; *A*, cordon antéro-latéral; *P*, cordon postérieur; *cc*, canal central.

D'emblée, on y distingue la substance blanche de la substance grise : cette dernière teintée de rose avec des taches plus foncées correspondant aux cellules nerveuses; la substance blanche, très faiblement colorée, dans laquelle on voit, même à un faible grossissement, la section transversale des tubes nerveux et de leur cylindre-axe. On y reconnaît le sillon antérieur et le sillon postérieur qui, prolongés, diviseraient la moelle en deux portions

1. *A. Forel*. Untersuch. über die Haubenreg. u. ihre oberen Verknüpf. im Gehirn des Menschen u. einiger Saügeth. u. Beitr. zu den Methoden der Gehirnuntersuch. (*Arch. f. Psych.* VII, p. 393.)

symétriques; le canal central avec sa bordure de cellules cylindriques, les cornes antérieures, les cornes postérieures et les cornes latérales qui sont spéciales à la région dorsale et que l'on désigne généralement sous le nom de colonnes de Clarke.

On y voit encore, dans la substance blanche, le grand cordon antéro-latéral qui peut être distingué en cordon antérieur et en cordon latéral, bien qu'il n'y ait pas entre eux de ligne de démarcation; le cordon postérieur qui se décompose lui-même en cordon postérieur proprement dit et cordon de Goll. Le cordon de Goll est beaucoup plus marqué chez d'autres animaux, le chien, par exemple, surtout dans la région lombaire.

Les cornes postérieures sont limitées, en arrière et en dedans, par une couche d'un aspect tout spécial, que l'on désigne sous le nom de substance gélatineuse de Rolando.

La substance gélatineuse de Rolando est colorée en rouge dans les coupes faites après durcissement par les bichromates alcalins, lorsqu'elles ont été traitées par le carmin de Gerlach ou le picrocarminate. Elle a sur la moelle examinée sans addition d'aucun réactif un aspect remarquable. Lorsque l'on fait, aussi franchement que possible, avec un rasoir, sur la moelle tout à fait fraîche, une coupe relativement épaisse, et qu'on la place sur une lame de verre pour la regarder à contre-jour, on y voit comme une fente lumineuse correspondant à la substance gélatineuse de Rolando. Cette grande transparence provient de ce qu'il y a très peu de fibres nerveuses à myéline au travers de cette substance. Ce sont ces fibres qui, en effet, déterminent l'opacité considérable de la substance blanche et l'opacité relative de la substance grise.

L'examen microscopique des coupes transversales de la moelle permet de reconnaître que les tubes nerveux du cordon antéro-latéral sont généralement plus gros que ceux du cordon postérieur et surtout que ceux du cordon de Goll, qui sont remarquables par leur petitesse; qu'il y a des cellules nerveuses ou ganglionnaires seulement dans la substance grise: que ces cellules se montrent par petits groupes dans les cornes antérieures, les cornes latérales et sur les côtés du canal central. Elles sont peu nombreuses dans les cornes postérieures; il peut même se faire qu'on n'en observe pas du tout dans certaines coupes, surtout si elles sont très minces.

Sous l'influence de la méthode employée, durcissement rapide par l'action successive du bichromate d'ammoniaque et de l'acide chromique, toutes les cellules sont rétractées; mais on peut reconnaître leur véritable forme à l'aide d'autres méthodes, la dissociation après l'action d'un réactif fixateur, par exemple.

Pour isoler les cellules ganglionnaires de la moelle épinière, Deiters employait la méthode de M. Schultze, qui consiste à faire macérer les tissus que l'on veut dissocier dans une solution d'acide chromique très diluée, à 1 ou 2 pour 10 000. Depuis, j'ai montré que l'alcool au tiers (voy. p. 68) est un excellent liquide dissociateur pour les épithéliums et les cellules nerveuses. Plus récemment, j'ai combiné son action à celle de l'acide

osmique[1]. Une tranche de la moelle du bœuf ayant 2 à 3 millimètres d'épaisseur est placée 8 à 10 centimètres cubes d'alcool au tiers. Vingt-quatre ou quarante-huit heures après, avec une aiguille à cataracte, on enlève de petits fragments des cornes antérieures; on les porte dans un tube bouché comme

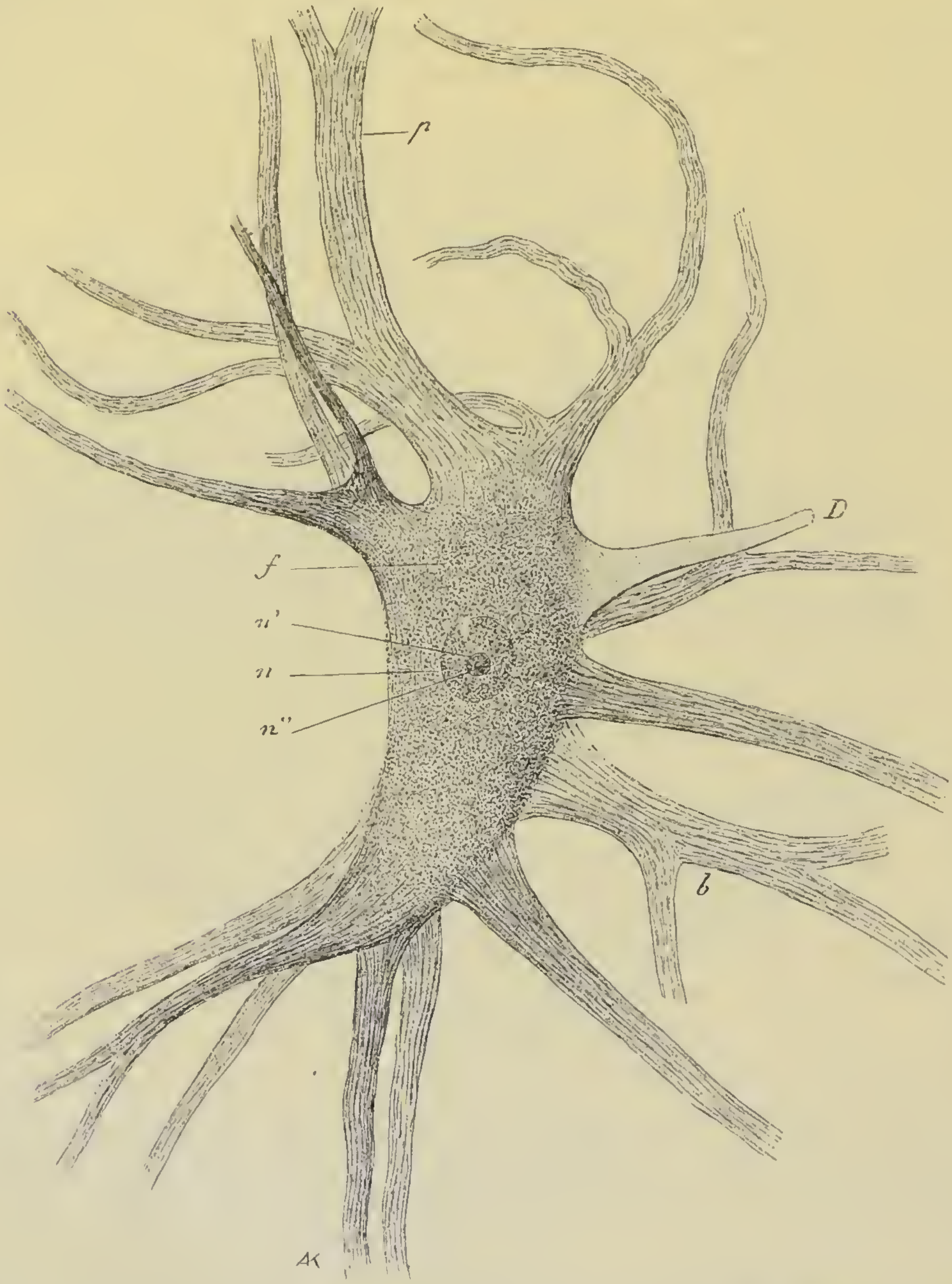


Fig. 590. — Cellule nerveuse des cornes antérieures de la moelle épinière du bœuf, isolée par agitation dans l'eau après l'action de l'alcool au tiers, colorée par le picrocarminate et fixée par l'acide osmique. — *D*, prolongement de Deiters, rompu au point rétréci; *p*, prolongement protoplasmique; *b*, bifurcation d'un prolongement protoplasmique; *f*, substance fibrillaire de la cellule; *n*, noyau ganglionnaire; *n'*, nucléole de ce noyau; *n''*, son nucléolule.

ceux qu'on emploie pour l'analyse des urines, dans lequel on a mis de l'eau distillée jusqu'au quart de sa hauteur. Fermant l'orifice du tube avec la pulpe du pouce, on agite fortement et à plusieurs reprises, afin de dissocier par le

1. Voyez p. 735 et Comptes rendus Acad. des Sc. 1882, *De la Névroglie*

battage les fragments de substance grise. On ajoute ensuite quelques gouttes d'une solution de picrocarminate au centième, de manière à donner à l'eau une teinte rose. Généralement au bout d'une heure, la coloration des cellules ganglionnaires, isolées et en suspension dans l'eau, est déjà suffisante. On ajoute alors un peu d'une solution d'acide osmique au centième, un centimètre cube par exemple. Les éléments, dissociés par l'alcool au tiers et colorés par le picrocarminate, sont fixés par l'acide osmique : c'est là le principe de cette méthode. En quelques heures, la fixation est produite. Avec un tube de verre, ouvert au deux bouts, que l'on manie comme une pipette, on prend, au fond du tube bouché, les éléments qui y sont tombés, parce qu'ils sont plus lourds que l'eau ; on les met dans un autre tube contenant de l'eau distillée pour les reprendre par le même procédé. Ils sont alors débarrassés, et de l'excès de picrocarminate, et de l'excès d'acide osmique. On les dépose sur une lame de verre pour les examiner au microscope à un faible grossissement. Observées dans ces conditions, les cellules nerveuses sont admirables; il n'y a pas de plus belles préparations, mais elles ne sont pas persistantes. Si l'on veut examiner à loisir ces éléments, les dessiner soi-même ou les faire dessiner, il faut compléter la préparation.

Pour cela, on place un petit fragment de gélatine à la glycérine (voy. p. 119) sur une lame de verre reposant sur un bloc de métal chauffé à la température de 40° environ. Il faut choisir de préférence du cuivre rouge, à cause de sa grande capacité calorifique. Le fragment de gélatine à la glycérine fond et forme une goutte qui s'étale. A ce moment, on y ajoute les cellules ganglionnaires que l'on a recueillies avec la pipette. On rend le milieu homogène en mélangeant avec l'aiguille, on recouvre d'une lamelle et on regarde à un faible grossissement. En général, il y a dans la préparation de très belles cellules nerveuses, montrant leurs différents ordres de prolongements, le prolongement cylindraxile et les prolongements protoplasmiques. Le corps de la cellule est nettement fibrillaire, comme les prolongements protoplasmiques qui en émanent. Enfin, on y distingue le noyau ganglionnaire avec son nucléole muni de vacuoles que l'on a désignées sous le nom de nucléolules (voy. fig. 590).

Le plus souvent, le prolongement cylindraxile a été rompu à une petite distance de la cellule, en un point de son trajet à peu près toujours le même : cependant, dans un certain nombre de préparations, on pourra voir le prolongement cylindraxile se poursuivre bien au delà de ce point qui correspond, comme on peut en juger alors, à une région où il est rétréci. En général, à partir de son implantation sur la cellule ganglionnaire, il diminue progressivement de diamètre, puis devient peu à peu plus large et prend ensuite une forme régulièrement cylindrique. Dans le point rétréci qui correspond à l'apparition de la myéline, par conséquent à la formation du tube nerveux, il y a une condensation de la substance cylindraxile qui paraît plus homogène, plus vitreuse et plus fragile.

Cette méthode est très avantageuse, non seulement parce qu'elle donne de fort belles préparations, mais encore parce qu'elle peut être appliquée

sans qu'il soit nécessaire d'être très exercé aux manipulations histologiques.

Deux autres méthodes sont, cependant, à recommander encore.

L'une consiste à pratiquer dans la substance grise de la moelle du bœuf ou du chien, tout à fait fraîche, au moyen de la seringue de Pravaz, une injection interstitielle de sérum faiblement iodé, à enlever le fragment imbibé par l'injection et à le placer dans un petit flacon contenant lui-même du sérum iodé. Le lendemain, on pratique avec les aiguilles la dissociation, en suivant les indications données à la page 65.

Dans la seconde méthode, au lieu du sérum iodé, on emploie l'acide

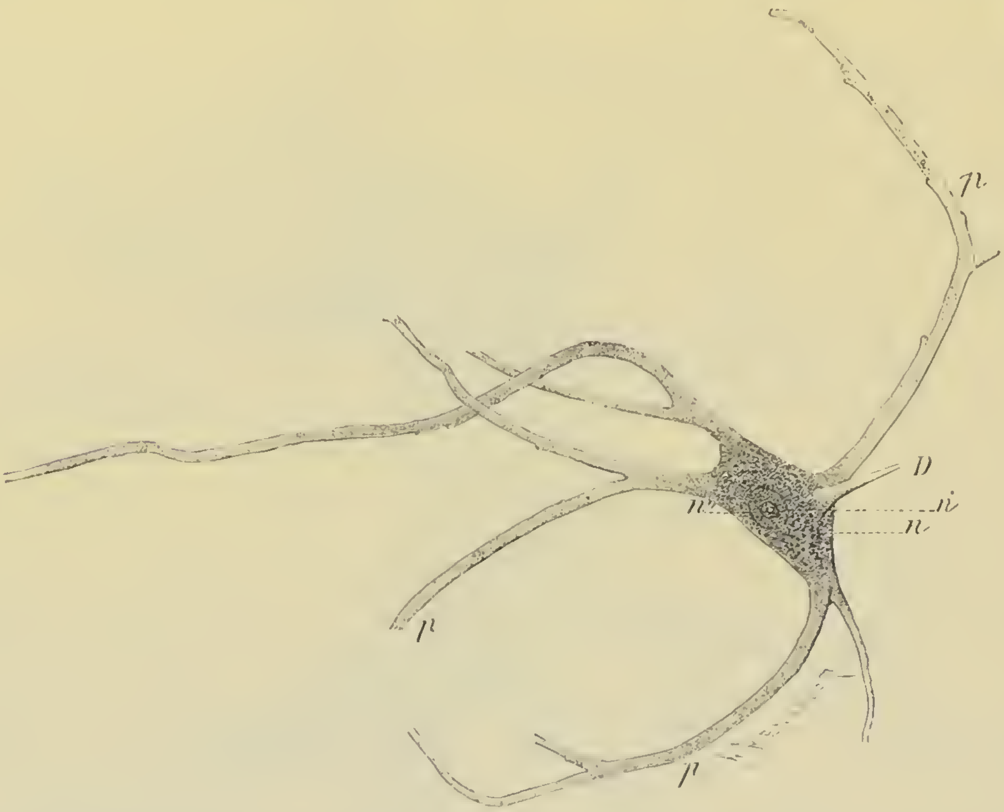


Fig. 591. — Cellule nerveuse des cornes antérieures de la moelle épinière de l'homme, isolée après injection interstitielle de sérum iodé. — *D*, prolongement de Deiters, cassé au niveau de son point rétréci ; *p*, prolongements protoplasmiques ; *n*, noyau ganglionnaire ; *n'*, son nucléole ; *n''*, son nucléolule.

osmique à 2 pour 100 pour l'injection interstitielle et l'on dissocie immédiatement dans le sérum faiblement iodé.

Il est difficile de bien isoler, par ces deux dernières méthodes, les cellules ganglionnaires, et, lorsqu'elles sont isolées, il est plus difficile encore d'en faire des préparations persistantes. Pour y arriver, il faut beaucoup de soin et beaucoup de patience. Il faut colorer les éléments avec du picrocarminate, ajouter de la glycérine, recouvrir d'une lamelle qui doit être soutenue avec des cales de papier. Dans ces diverses manipulations, il y a bien des chances pour que la cellule, qui se présentait convenablement après la dissociation, soit retournée, que ses prolongements s'entremêlent, etc.

Il faut néanmoins préparer des cellules des cornes antérieures au moyen des injections interstitielles d'acide osmique, parce que leur forme et leur

structure se voient alors très nettement et qu'à côté d'elles la névroglie montre certains détails importants de sa structure. Nous y reviendrons bientôt.

Les injections interstitielles d'acide osmique, faites dans la substance blanche, surtout dans le cordon antéro-latéral, permettent d'obtenir, par dissociation, des préparations de tubes nerveux de la moelle épinière dans lesquelles on peut reconnaître (fig. 595) que ces tubes ont des diamètres très variables et qu'ils n'ont pas d'étranglements annulaires, par conséquent, pas de segments interannulaires, ni de membrane de Schwann. Tous possèdent

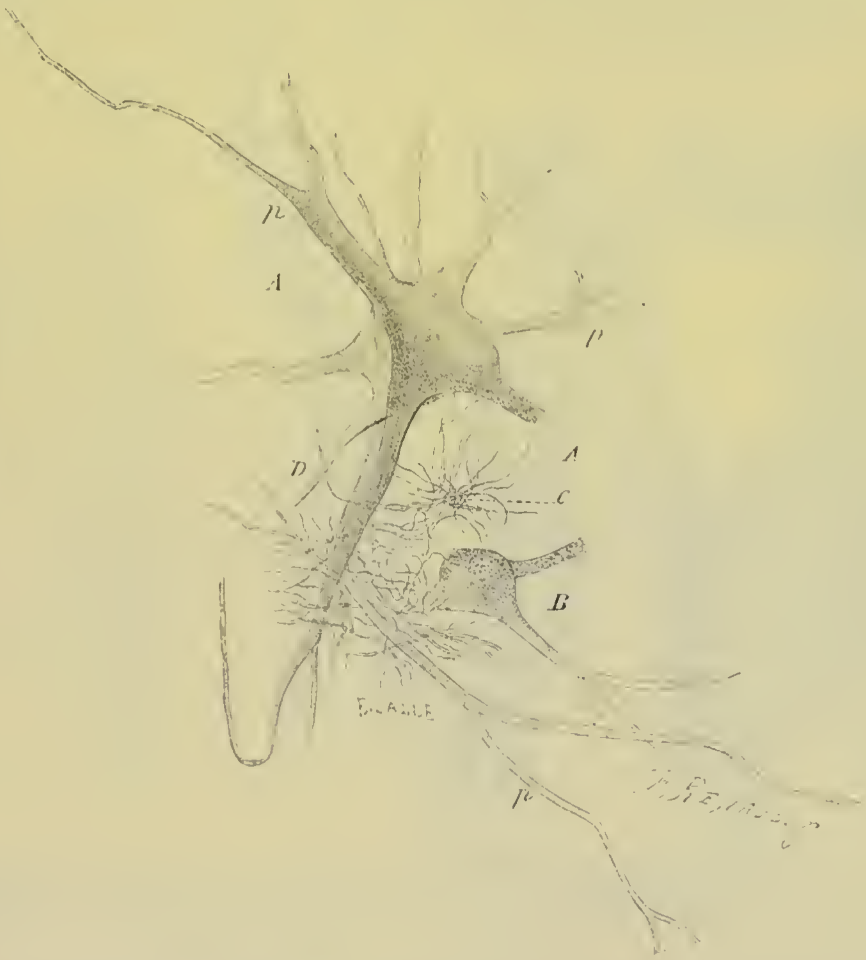


Fig. 592. — Deux cellules, *A* et *B*, des cornes antérieures de la moelle épinière du bœuf, préparées par dissociation après injection interstitielle d'acide osmique. — *D*, prolongement de Deiters; *p*, prolongements protoplasmiques; *c*, une cellule de la névroglie.

les plus petits comme les plus gros, un cylindre-axe et une gaine de myéline. Il peut se faire que cette gaine soit distendue et rompue en un ou plusieurs points (voy. A, fig. 595). On observe à sa surface comme une membrane mince et plissée. La plupart des petits tubes sont variqueux (voy. C et D, fig. 595) : sur certains, qui sont en petit nombre, il existe un noyau logé dans une lame de protoplasma appliquée à leur surface (voy. E, c, fig. 595).

Lorsque l'action de l'acide osmique n'a pas été trop forte, les tubes nerveux de la moelle montrent de la manière la plus nette les incisures de Schmidt (voy. fig. 594), et à leur niveau on observe une disposition signalée

par Rezzonico[1] et Golgi[2], consistant dans une apparence de filaments enroulés autour des segments cylindro-coniques, comme pour les maintenir. C'est là une de ces formes bizarres que revêt la myéline et qui sont difficiles à expliquer.

L'existence des incisures et des segments cylindro-coniques ne saurait expliquer à elle seule les anneaux concentriques que l'on observe dans la gaine de myéline sur les coupes transversales des tubes nerveux de la moelle épinière. En effet, si ces anneaux étaient produits par les segments cylindro-coniques seuls, leur nombre ne devrait pas dépasser deux ou trois, ainsi qu'il ressort de ce qui a été dit des images observées sur la section trans-

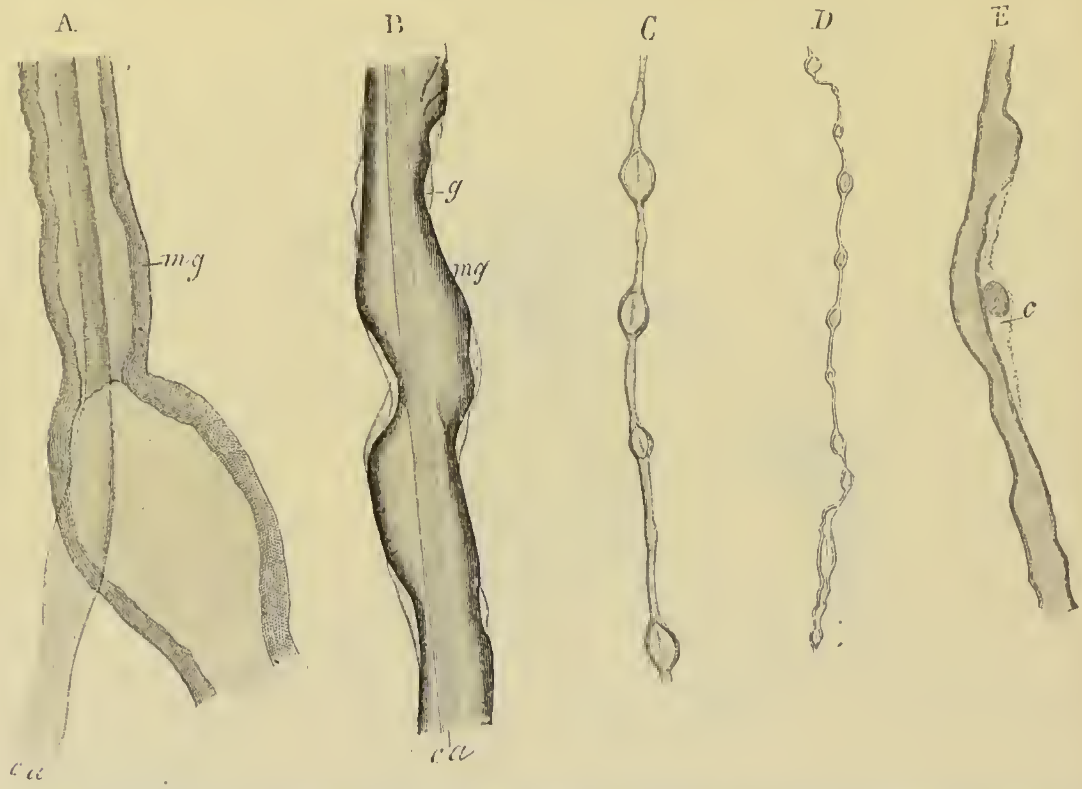


Fig. 395. — *A*, *B*, *C*, *D* et *E*, divers tubes nerveux des cordons antérieurs de la moelle épinière du chien, isolés par dissociation après injection interstitielle d'acide osmique. — *ca*, cylindre-axe; *mg*, gaine de myéline; *g*, enveloppe périphérique; *c*, noyau et protoplasma que l'on observe à la surface de quelques rares tubes nerveux.

versale des nerfs périphériques (p. 568 et fig. 261). Le nombre de ces anneaux étant plus considérable, il est probable que les filaments de myéline qui se développent dans les incisures, sous l'influence des réactifs, doivent concourir à leur formation. C'est surtout dans les coupes faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque ou le bichromate de potasse que les anneaux concentriques de la couche de myéline sont nombreux et bien marqués (voy. fig. 400 et fig. 401).

Dans les coupes de la moelle épinière, faites après durcissement par les

1. *Rezzonico*, Sulla strutt. del fibre nerv. del. mid. spinale. (*Arch. Sc. mediche*, 1881, t. IV, p. 78.)

2. *Golgi*, Sulla struttura delle fibre nervose midollate periferiche e centrali. (*Arch. Sc. mediche*, 1881, t. IV, p. 221.)

bichromates alcalins, ou après l'action successive de ces bichromates et de l'acide chromique, on peut observer les rapports des cellules ganglionnaires avec les tubes nerveux. Toutes les méthodes de coloration peuvent conduire à l'observation de ces rapports. Cependant il en est deux qui me paraissent supérieures.

La première a déjà été indiquée : c'est celle qui consiste à colorer en masse au picrocarminate d'ammoniaque des fragments de moelle durcis, ou par l'action du bichromate d'ammoniaque seul, ou par l'action successive du bichromate de potasse ou d'ammoniaque et de l'acide chromique. En choisissant parmi les coupes transversales que l'on en fait à partir de la surface, on en trouvera dans lesquelles on verra, de la manière plus nette, le prolongement cylindraxile d'une cellule ganglionnaire pénétrer dans un tube nerveux muni d'une gaine de myéline, caractérisé au milieu de la substance grise par sa bordure incolore (voy. *a*, fig. 595). On pourra voir encore ce tube s'engager dans la substance blanche pour concourir à la formation d'une racine motrice.

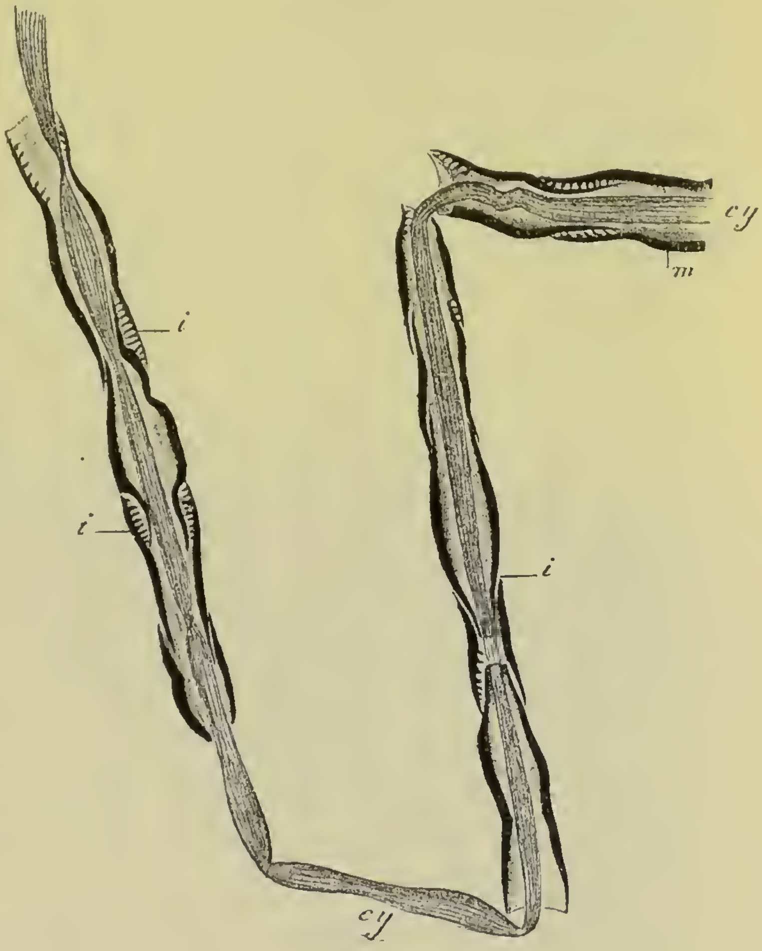


Fig. 594. — Tube nerveux des cordons antérieurs de la moelle du chien, isolé par dissociation après injection interstitielle d'acide osmique. — *cy*, cylindre-axe ; *i*, incisures ; *m*, gaine de myéline.

L'autre méthode consiste à colorer, au moyen de l'orcéine (voy. p. 95), des coupes de moelle faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque seul. Il convient de rappeler qu'il faut un séjour d'une année dans ce dernier réactif pour obtenir un durcissement convenable.

Lorsqu'elles ont séjourné vingt-quatre heures dans la solution d'orcéine, les coupes de moelle sont admirablement colorées. La coloration porte surtout sur les cylindres-axes et sur les cellules de la névroglie. Pour observer ces coupes, il faut les monter dans le baume du Canada ou la résine dammare, exactement comme si elles avaient été colorées par le carmin.

Quelle que soit la méthode employée pour colorer les coupes de la moelle

épinière, quel que soit le mammifère que l'on ait choisi, l'homme, le bœuf, le chien, le chat, le lapin, on pourra reconnaître que les cellules ganglionnaires, celles des cornes antérieures, celles des cornes latérales, celles des cornes postérieures et celles qui sont placées de chaque côté du canal central, ont des dimensions très variables. Il y en a de grosses, de moyennes et de petites, et, en général, la grandeur du noyau est en rapport avec celle de

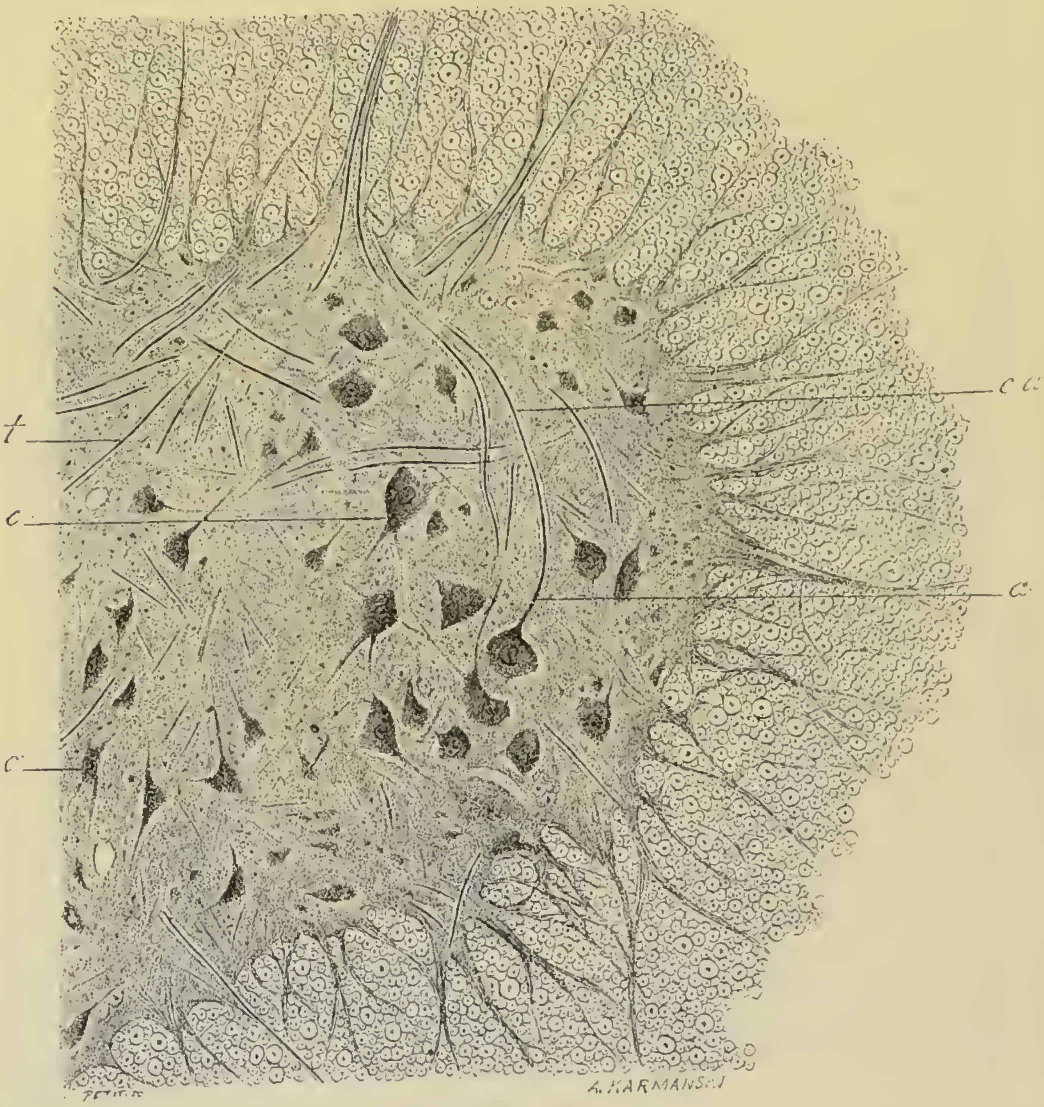


Fig. 595. — Corne antérieure de la moelle épinière du lapin, observée dans une coupe transversale faite après durcissement par l'action successive du bichromate d'ammoniaque et de l'acide chromique et coloration en masse par le picrocarminate — *c* et *c'*, cellules nerveuses de différentes dimensions; *t*, tubes nerveux parcourant la substance grise; *ca*, prolongement cylindraxile ou de Deiters d'une cellule nerveuse; *a*, point du prolongement cylindraxile où commence la myéline.

la cellule. Faut-il penser, avec quelques histologistes, qu'il y a un rapport entre les dimensions et la fonction? Faut-il considérer comme motrices les grandes cellules et comme sensitives les petites cellules, sous prétexte qu'il y a moins de grandes cellules dans les cornes postérieures que dans les antérieures? Non, puisque toutes les cellules des ganglions spinaux ont les mêmes fonctions et que, pourtant, elles diffèrent de volume, tout autant que les cellules de la moelle épinière.

Les cellules nerveuses de la moelle épinière subissent, sous l'influence des bichromates alcalins, des altérations de forme semblables à celles que l'on observe dans les cellules des ganglions spinaux soumis aux mêmes réactifs (voy. p. 801). Certaines d'entre elles ne sont point rétractées; elles occupent toute la place qui leur est réservée dans la substance grise; elles sont à peine colorées, et leur noyau apparaît comme une belle vésicule au sein de laquelle le nucléole est dessiné nettement. D'autres cellules sont fortement rétractées; leur substance condensée est plus vivement colorée par le carmin; on n'y voit plus le noyau ganglionnaire, ou bien il est à peine distinct.

Si les cellules sont pigmentées, comme celles de l'homme adulte, du chien, etc., l'ilot de granulations pigmentaires ne se voit bien que dans celles qui ne sont pas revenues sur elles-mêmes. Quand les cellules sont rétractées, on observe autour d'elles une zone claire qui correspond à l'espace qu'elles ont abandonné dans la substance grise. Quelques auteurs ont considéré cet espace comme appartenant au système lymphatique de la moelle, espace lymphatique péricellulaire; mais c'est là évidemment une erreur.

Entre les cellules fortement rétractées et celles qui ne le sont pas du tout, on trouve tous les intermédiaires.

Si la moelle a été durcie dans la solution d'acide chromique à 2 pour 1000, sans faire précéder l'action de ce réactif de celle d'une solution de bichromate, toutes les cellules sont rétractées et à peu près de la même quantité; toutes alors se colorent en rouge à peu près de la même façon par le carmin.

On obtient encore des préparations démonstratives des cellules ganglionnaires de la substance grise de la moelle par la méthode de Golgi[1], méthode qui consiste à porter dans une solution de nitrate d'argent à 1 pour 500 des segments de moelle que l'on a fait durcir dans le bichromate de potasse à 2 pour 100. Après un séjour de vingt-quatre heures dans la solution de nitrate d'argent, les segments de moelle, lavés à l'eau distillée, sont portés dans l'alcool, et on y fait ensuite des coupes méthodiques que l'on monte dans le baume ou la résine dammare. Dans ces préparations, les cellules ganglionnaires, examinées à la lumière transmise, paraissent complètement noires; elles sont opaques. Leurs prolongements, noirs comme leur corps, sont colorés dans une longueur variable à partir de leur origine. Quelquefois la coloration s'arrête brusquement; ils paraissent coupés. Rien n'est plus irrégulier que la distribution de ce dépôt de chromate d'argent. Quelquefois les préparations sont d'une beauté remarquable; mais, le plus souvent, le dépôt s'est fait irrégulièrement, il a coloré quelques-unes des cellules ganglionnaires, il en a épargné d'autres et il a envahi plus ou moins complètement les vaisseaux sanguins et les cellules de la névroglie qui forment, de-ci de-là, comme des touffes de gazon.

La moelle épinière possède une charpente connective des plus remarquables et des plus nettes. Cependant les nombreux auteurs qui s'en sont occupés ont émis à son sujet les opinions les plus contradictoires. Comme je

1. *Golgi*, Recherches sur l'Histologie des centres nerveux. (*Arch. ital. de Biologie*, 1883 t. III, p. 285.)

crois être arrivé à bien voir sa structure, à établir sa signification morphologique et ses rapports avec les éléments nerveux proprement dits de la moelle épinière, je pense qu'il n'est pas nécessaire de donner toutes les opinions qui ont eu cours dans la science, d'autant plus que cet ouvrage n'est pas un traité dogmatique d'histologie. Je rappellerai seulement que Deiters[1] a trouvé dans la charpente connective de la moelle des cellules présentant des prolongements arborisés et que Boll[2] a soutenu que ces prolongements ne seraient jamais arborisés, ne se diviseraient pas et naîtraient de la cellule tels qu'ils sont dans le reste de leur étendue.

Je rappellerai également mon premier travail sur ce sujet[3].

Deiters et Boll firent leurs recherches sur le tissu conjonctif de la moelle au moyen d'une méthode qui avait été préconisée par leur maître M. Schultze : la dissociation après l'action de l'acide chromique très dilué, 1 à 2 pour 10 000. Comme cette méthode ne m'inspirait qu'une confiance très relative, je cherchai à appliquer à l'étude du tissu conjonctif de la moelle la méthode des injections interstitielles, qui m'avait donné des résultats si remarquables dans l'étude du tissu conjonctif et des ganglions spinaux.

Ayant fait dans les cordons antéro-latéraux de la moelle du chien, une injection d'acide osmique à 2 pour 100, j'ai séparé d'abord les parties atteintes par le réactif, se reconnaissant à leur coloration noire et je les ai dissociées. Entre les tubes nerveux présentant les différentes formes indiquées plus haut (p. 814), on voyait (fig. 396) des fibres légèrement onduleuses, ayant toutes à peu près le même diamètre et d'une longueur indéterminée, toutes ayant été rompues à leurs deux extrémités apparentes par les manœuvres de la dissociation. Ces fibres s'entre-croisaient en nombre variable en certains points, et, au niveau de l'entre-croisement, on voyait appliquée sur elles une cellule granuleuse aplatie et munie d'un noyau. Il m'a semblé que ces cellules pouvaient se détacher des fibres sur lesquelles elles se trouvaient appliquées, pour flotter librement dans le liquide additionnel. Étant donnés les faits que j'avais trouvés relativement à la structure du tissu conjonctif, la charpente connective de la moelle paraissait se rapprocher, par des caractères importants, de certaines formes du tissu conjonctif. Cependant, plus tard[4], sans rien changer à mes anciennes observations, je les ai complétées et je suis arrivé à une conception morphologique un peu différente et, en même temps, j'ai pu m'expliquer les observations de Deiters et celles de Boll, qui au premier abord paraissaient si différentes des miennes.

Un segment de moelle du bœuf ou du chien adulte est placé dans le liquide de Müller. Au bout de quinze jours, on fait dans le cordon antéro-latéral une coupe transversale grossière que l'on reçoit dans l'eau. On la place dans le picrocarminate. Lorsqu'elle est colorée, on la lave et on en prend un mor-

1. Deiters, loc. cit.

2. *F. Boll.* Histolog. u. Histogen. der nerv. Centralorg. (*Arch. f. Psychiatr.* 1873, t. IV.)

3. *Sur les éléments conjonctifs de la moelle épinière.* Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, 1873.

4. *De la Névroglie.* Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, 1882.

ceau que l'on met sur une lame de verre dans une goutte de glycérine. On recouvre d'une lamelle grande et pas trop mince, afin qu'elle soit solide. En la soulevant et la réappliquant plusieurs fois, en appuyant chaque fois un peu fortement, on arrive à produire, par ce procédé brutal, une bonne dissociation des éléments connectifs de la moelle épinière. On trouve alors isolés dans la préparation un nombre considérable d'éléments qui correspondent à ce qui a été observé par Deiters et par Boll, et qu'ils ont décrit sous le nom de cellules de la névroglie, mot employé par Virchow pour désigner la substance connective des centres nerveux quelle qu'elle soit.

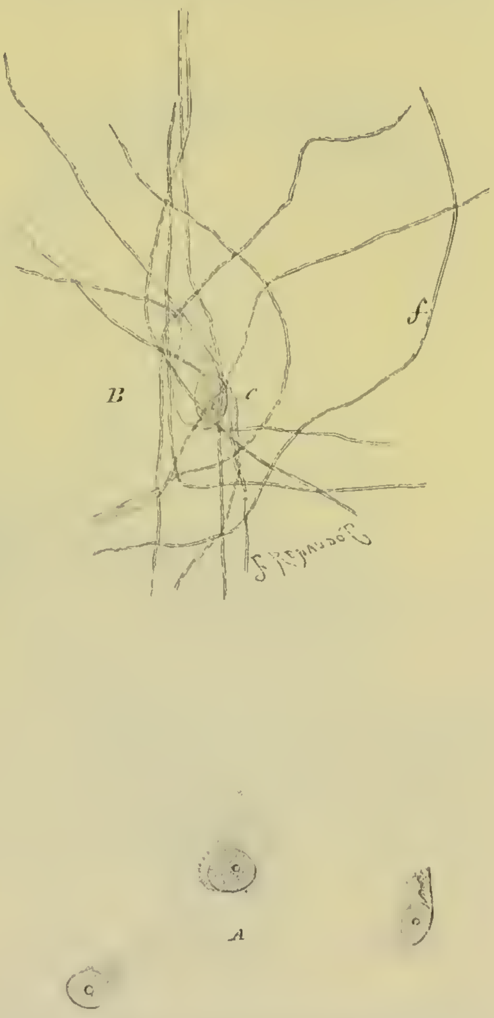


Fig. 596. — *A* et *B*, cellules et fibres de la névroglie des cordons blancs de la moelle épinière du chien adulte, isolées par dissociation après injection interstitielle d'acide osmique. — *f*, fibres de la névroglie; *c*, cellule formée d'un noyau et d'un amas de protoplasma.

Les éléments observés par Deiters et par Boll paraissent être, au premier abord, des cellules avec un noyau central, formées de protoplasma granuleux et munies de nombreux prolongements, cellules en araignée de Deiters; mais il suffit du plus simple examen pour reconnaître que ces nombreux prolongements n'ont pas une extrémité naturelle. Tous sont coupés ou déchirés. Évidemment, ils correspondent aux fibres de la charpente connective, qu'une autre méthode nous a montrées être de toutes longueurs.

Il faut beaucoup plus d'attention pour reconnaître que ces fibres ne partent pas de la cellule et ne font que la traverser. Elles passent à côté du noyau et sont plongées dans le protoplasma qui l'entoure. Lorsqu'elles émergent de la cellule, le protoplasma les accompagne encore sur une certaine longueur et souvent en unit deux ou trois qui se séparent ensuite (voy. fig. 597). Évidemment, Deiters a eu sous les yeux des éléments de cette forme lorsqu'il a dit que ces cellules, les cellules de la névroglie, présentaient des prolongements ramifiés.

Lorsque, au lieu de dissocier des coupes transversales de la substance blanche de la moelle fixée par un séjour convenable dans le liquide de Müller ou une solution de bichromate, on dissocie, ou la substance blanche, ou la substance grise, au moyen de l'alcool au tiers, en suivant exactement la méthode indiquée pour les cellules ganglionnaires (voy. p. 810), ou bien encore lorsque l'on dissocie la substance grise, surtout celle des cornes antérieures,

après y avoir fait une injection interstitielle d'acide osmique (voy. p. 815), on voit sans difficulté les fibres de la névroglie traverser les cellules (voy. fig. 598).

Enfin, après avoir acquis ces premières notions sur les fibres et les cellules de la névroglie, on peut les étudier en place dans des coupes de la moelle que l'on soumet à des réactions colorantes variées. On obtient ainsi : 1° des préparations dans lesquelles les noyaux, le protoplasma des cellules de la névroglie et les fibres sont également colorés; 2° des préparations dans lesquelles,

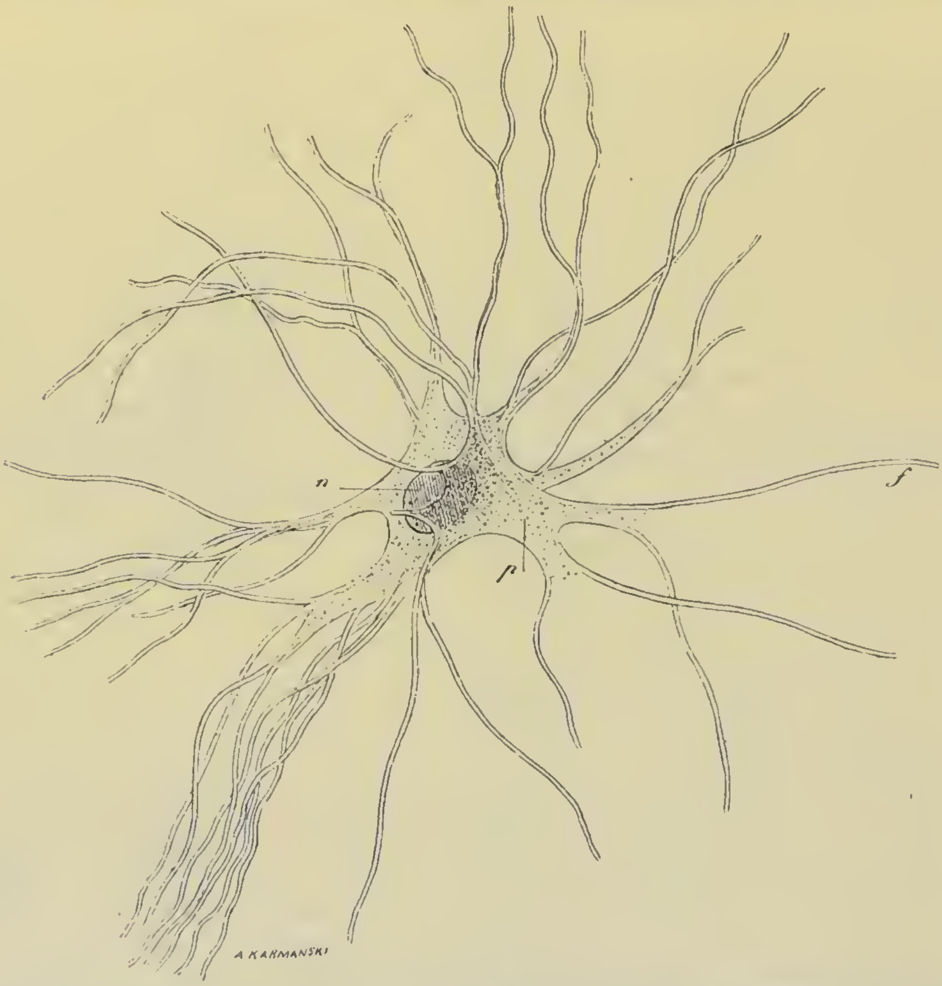


Fig. 597. — Cellule de la névroglie des cordons latéraux de la moelle épinière du bœuf, isolée après l'action du liquide de Müller. — *p*, protoplasma de la cellule; *n*, son noyau; *f*, fibres de la névroglie qui semblent partir de la cellule.

les fibres étant incolores, les noyaux et le protoplasma sont colorés; 3° des préparations où les noyaux seuls présentent une coloration distincte.

1° La moelle étant durcie par le bichromate d'ammoniaque seul, ou par l'action successive du bichromate et de l'acide chromique, est colorée en masse par le picrocarminate, comme il a été dit p. 807, et les coupes transversales montées dans la résine dammare. Dans certaines d'entre elles, on verra, dans la substance blanche, les cylindres-axes colorés, la myéline incolore, les fibres de la névroglie se présentant suivant leur longueur ou coupées en travers, colorées en rouge comme les cylindres-axes; enfin, de distance en distance, assez éloignées sur les coupes qui sont très minces, des cellules de la névroglie dont le noyau et la masse protoplasmique sont également

colorés en rouge, et qui sont placées en des points où un grand nombre de fibres de la névroglie s'entre-croisent (fig. 399).

2° La moelle, étant durcie après un séjour d'une année dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, les coupes en sont colorées au moyen de l'orcéine (voy. p. 815). Lorsque la coloration est bien réussie, les cylindres-axes sont fortement colorés, tandis que les fibres de la névroglie sont incolores ou à peine teintées. Tout au contraire, le noyau et le protoplasma des cellules de la névroglie sont colorés en brun foncé et se confondent dans la même masse, c'est-à-dire que l'on ne distingue pas le noyau. Les cellules de la névroglie appliquées à la surface de certains tubes nerveux se présentent, dans les coupes transversales, sous la forme de croissants (fig. 400). Certaines de ces cellules, prises dans l'intervalle de trois ou quatre tubes nerveux, émettent autant de prolongements qu'elles rencontrent d'interstices; ce sont autant de crêtes d'empreinte semblables à celles dont j'ai signalé l'existence dans les cellules connectives.

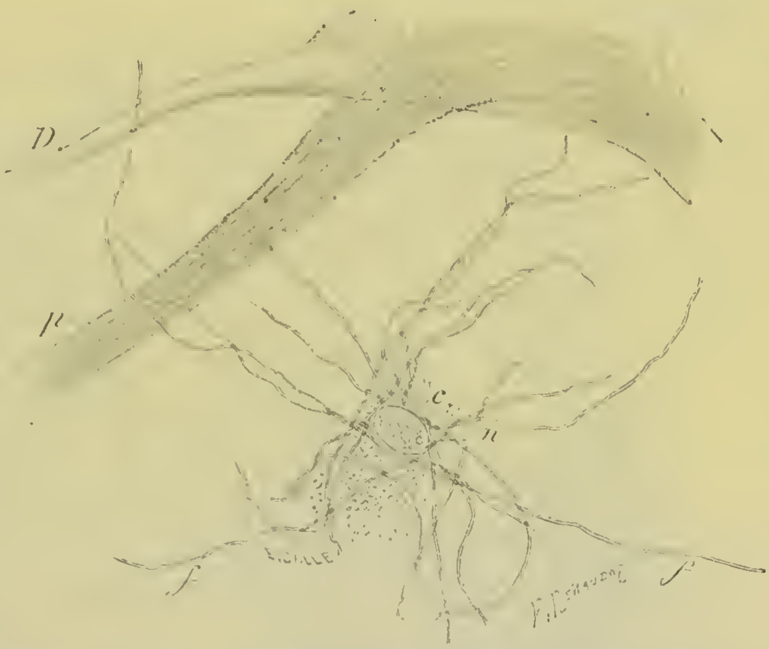


Fig. 398. — Cellule de la névroglie des cornes antérieures de la moelle du bœuf, isolée par dissociation après injection interstitielle d'acide osmique. C'est celle de la figure 392 dessinée à un fort grossissement. — *n*, noyau de la cellule; *c*, son protoplasma granuleux; *f*, fibre de la névroglie; *p*, prolongement protoplasmique d'une cellule nerveuse voisine; *D*, prolongement de Deiters de la même cellule.

3° Pour montrer les noyaux seulement des cellules de la névroglie, il y a plusieurs procédés de coloration qu'on peut tous appliquer aux coupes faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque.

a. — Après coloration de la coupe par le picrocarminate, on la place pendant 10 à 12 heures dans un mélange à parties égales d'alcool et d'acide formique. Les fibres de la névroglie et le protoplasma des cellules névrogliques sont alors entièrement décolorés; les cylindres-axes n'ont plus qu'une teinte rose pâle; seuls, les noyaux des cellules de la névroglie présentent une teinte rouge.

b. — La coupe, faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque, est laissée pendant vingt-quatre heures dans la solution de purpurine (voy. p. 95). Les cylindres-axes, les fibres de la névroglie et le protoplasma des cellules de la névroglie sont incolores; mais, en revanche, les noyaux des cellules de la névroglie sont roses (fig. 401).

c. — Les coupes, faites après durcissement complet dans le bichromate d'ammoniaque, sont colorées au moyen de l'hématoxyline nouvelle.

Les coupes de moelle, après qu'elles ont séjourné une ou plusieurs heures dans cette solution d'hématoxyline, sont montées dans la résine dammare, après avoir été déshydratées par l'alcool absolu et éclaircies par l'essence de girofle. Les cellules nerveuses et leurs noyaux sont incolores: les noyaux des cellules de la névroglie sont seuls colorés en violet.

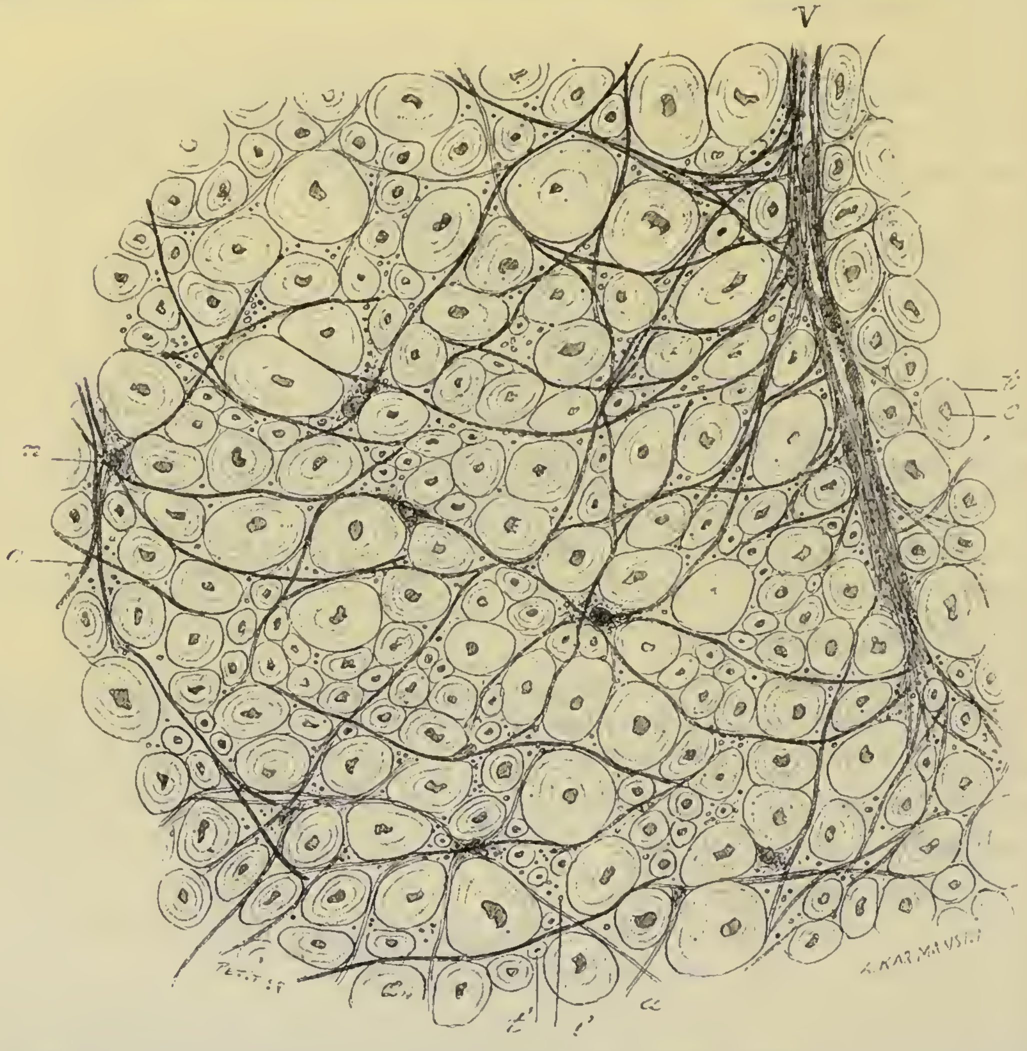


Fig. 399. — Coupe transversale d'un cordon antérieur de la moelle épinière du bœuf, faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque et coloration en masse par le picrocarminate d'ammoniaque. — *a*, fibres de la névroglie vues en long; *a'*, coupées en travers; *n*, noyau des cellules de la névroglie; *t*, tubes nerveux coupés transversalement; *c*, cylindre-axe; *t'*, tubes nerveux de petit diamètre; *V*, vaisseau sanguin entouré d'un manchon de névroglie.

Parmi les différents procédés de coloration que l'on peut appliquer aux coupes de la moelle épinière durcie par le bichromate d'ammoniaque, on doit donner la préférence aux colorations en masse par le picrocarminate, si l'on se propose d'étudier la disposition de la charpente connective de la moelle épinière. Ces préparations permettent de constater que toute la moelle est recouverte d'une couche continue de fibres de la névroglie formant un admirable feutrage. Cette couche revêt les lèvres du sillon antérieur et du sillon postérieur. Lorsqu'un vaisseau sanguin s'engage dans la moelle, il traverse d'abord la substance blanche avant d'atteindre la substance grise

centrale, et dans tout son trajet il est logé dans une sorte de manchon névroglique formé par l'expansion de la couche de névroglie qui entoure la moelle (voy. fig. 599). Tous les vaisseaux sanguins de la moelle, quels qu'ils soient, sont ainsi compris dans un manchon de névroglie qui se poursuit sur toutes leurs ramifications et se continue, aussi bien avec la névroglie centrale, celle qui fait partie de la substance grise, qu'avec la névroglie périphérique. De la névroglie périvasculaire se dégagent, en nombre très considérable, des fibres qui se confondent avec la charpente intertubulaire. Les fibres intertubulaires peuvent être orientées dans toutes les directions:



Fig. 400. — Coupe transversale des cordons antérieurs de la moelle épinière du veau, faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque; coloration de la coupe par l'orcéine. — *t*, tube nerveux de grand diamètre; *t'*, tubes nerveux minces; *ca*, cylindre-axe; *c*, cellules de la névroglie.

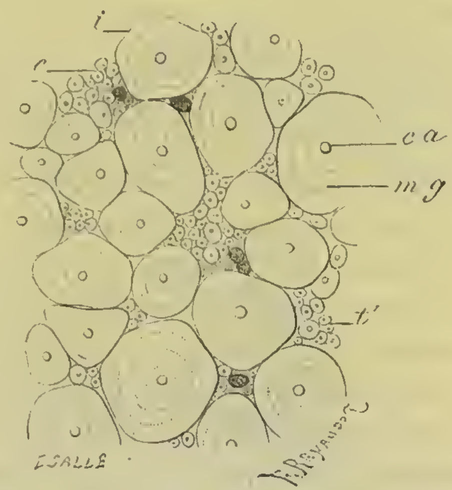


Fig. 401. — Coupe transversale des cordons antérieurs de la moelle épinière du veau, faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque; coloration de la coupe par la purpurine. — *t*, gros tubes nerveux; *t'*, tubes nerveux minces; *mg*, myéline; *ca*, cylindre-axe; *c*, noyau de la névroglie. (*Par erreur, le trait partant de la lettre c n'a pas été conduit sur le noyau : il est un peu au-dessus.*)

mais la plupart d'entre elles paraissent avoir un trajet transversal et peuvent être suivies dans une très grande longueur, dans les coupes de la moelle faites perpendiculairement à son axe. On constate ainsi qu'une fibre de la charpente connective de la moelle épinière peut être en relation avec plusieurs cellules de la névroglie et que sa longueur est indéterminable.

On a vu plus haut (p. 814) que les tubes nerveux des cordons de la moelle épinière ne possèdent pas de membrane de Schwann, tandis que les tubes nerveux des racines, racines motrices ou racines sensitives, ont une membrane de Schwann et des étranglements annulaires, et sont par conséquent constitués par une série de segments interannulaires.

Il n'est pas difficile de constater, dans les coupes transversales de la moelle épinière, particulièrement dans la région dorsale, que les fibres des racines se poursuivent à travers les cordons antéro-latéraux jusqu'aux cornes antérieures. Quel est le point où disparaît la membrane de Schwann, et comment

disparaît-elle? C'est là une question que l'on peut résoudre à l'aide de méthodes variées[1].

Chez un chien que l'on vient de sacrifier, on enlève de la moelle épinière un segment d'un centimètre à peu près de longueur, en ménageant avec soin les racines qui y sont attachées; on le place dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100; dix heures après, en saisissant les racines avec une pince, et les tirant, on constate qu'elles se détachent de la moelle assez facilement. Dissociant alors ces racines en ménageant avec soin celle de leurs extrémités qui s'est détachée de la moelle, on constatera que les tubes nerveux s'y terminent rarement au niveau d'un étranglement annulaire; le plus souvent, ils se sont séparés de la moelle épinière dans un point de leur trajet qui correspond à une région quelconque d'un segment interannulaire, de telle sorte que le segment, interrompu par l'entrée du tube de la moelle, a une longueur variable. Si cette longueur dépasse la moitié du segment, celui-ci montre son noyau qui, comme on le sait, occupe son milieu. Mais si cette longueur est inférieure à la moitié du segment, on n'y observe pas de noyau; il est probable que ce noyau est resté dans la moelle épinière. Pour démontrer qu'il en est réellement ainsi, il faut procéder de la manière suivante:

Au moyen d'un rasoir bien tranchant, on sépare, de la moelle épinière tout à fait fraîche, une tranche longitudinale correspondant aux racines antérieures de l'un des côtés. Cette tranche, qui ne doit pas avoir beaucoup plus d'un millimètre d'épaisseur, est placée dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Le lendemain, au moyen des aiguilles, on dissocie en cherchant à obtenir, aussi bien isolés que possible, les tubes nerveux des racines et leurs prolongements intramédullaires. On peut constater, à l'aide de ce procédé, que les tubes intramédullaires des racines montrent parfois des noyaux appliqués à leur surface et que ces tubes ne présentent cependant pas d'étranglements annulaires et ne sont pas revêtus d'une membrane de Schwann (voy. fig. 402). Les noyaux, au lieu d'être placés dans une encoche de myéline, comme ceux des segments interannulaires, font saillie en dehors et sont logés dans une masse de protoplasma qui s'étend à la surface du tube.

L'observation des tubes nerveux extra et intra-médullaires des racines de la moelle indique que la membrane de Schwann de ces racines doit disparaître au point où les tubes pénètrent dans la moelle épinière. Du reste, il est possible de faire, à ce sujet, une observation directe. Pour cela, il faut examiner des coupes de la moelle épinière faites après durcissement dans le bichromate d'ammoniaque, colorées par le picrocarminate et traitées ensuite pendant dix à douze heures par un mélange à parties égales d'alcool et d'acide formique (voy. p. 822). Comme je l'ai établi, dans le travail déjà cité, l'acide formique enlève, en le dissolvant, le carmin qui est fixé sur les éléments anatomiques; mais tous ces éléments ne se décolorent pas aussi

1. *Des modifications de structure qu'éprouvent les tubes nerveux en passant des racines dans la moelle épinière.* Comptes rendus Acad. des Sciences, 1882.

facilement; quelques-uns résistent davantage et se montrent dès lors avec une remarquable netteté. C'est dans ces préparations que l'on observe, de la manière la plus facile et la plus nette, les modifications des tubes des racines, quand ils pénètrent dans la moelle épinière.

On a vu plus haut que toute la surface de la moelle est couverte d'une couche de névroglie; c'est au moment où le tube nerveux s'engage dans cette couche que la membrane de Schwann disparaît. Le protoplasma qui la double se poursuit seul au delà, et dans son intérieur on voit un noyau, comme il a déjà été dit à la page 814.

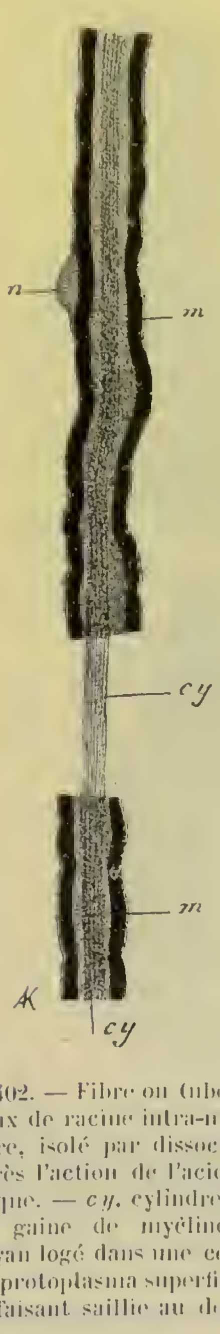


Fig. 402. — Fibre ou tube nerveux de racine intra-médullaire, isolé par dissociation après l'action de l'acide osmique. — *cy*, cylindre-axe; *m*, gaine de myéline; *n*, noyau logé dans une couche de protoplasma superficielle et faisant saillie au dehors.

Pour bien observer le trajet des tubes nerveux des racines motrices et des racines sensitives dans la moelle épinière et pour étudier la distribution des fibres nerveuses à myéline dans la substance

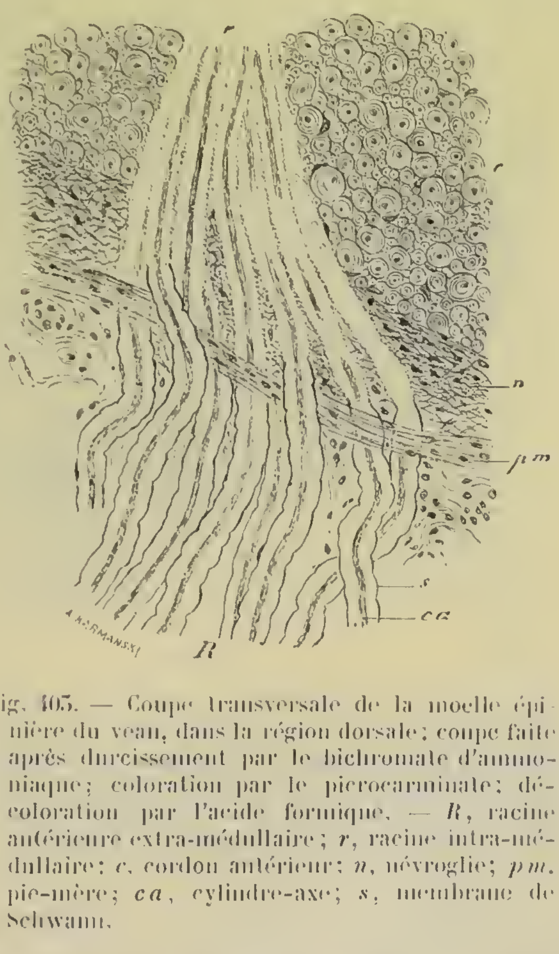


Fig. 403. — Coupe transversale de la moelle épinière du veau, dans la région dorsale; coupe faite après durcissement par le bichromate d'ammoniaque; coloration par le picrocarminate; décoloration par l'acide formique. — *R*, racine antérieure extra-médullaire; *r*, racine intra-médullaire; *c*, cordon antérieur; *n*, névroglie; *pm*, pie-mère; *ca*, cylindre-axe; *s*, membrane de Schwann.

grise, on peut employer différentes méthodes ayant pour but de colorer la gaine de myéline des tubes nerveux compris dans des coupes faites après durcissement de la moelle au moyen des bichromates alcalins.

La plus simple de ces méthodes consiste à traiter les coupes par l'acide osmique; mais il y en a une autre qui donne de meilleurs résultats : un segment de la moelle épinière ayant séjourné quelques semaines dans une

solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 est divisé en segments plus petits ayant à peu près 2 millimètres de hauteur. Après les avoir lavés dans l'eau distillée, on les plonge dans une solution de chlorure double d'or et de potassium à 1 pour 100; on les y laisse pendant une heure et demie à deux heures au plus : on les lave de nouveau à l'eau distillée, on les expose

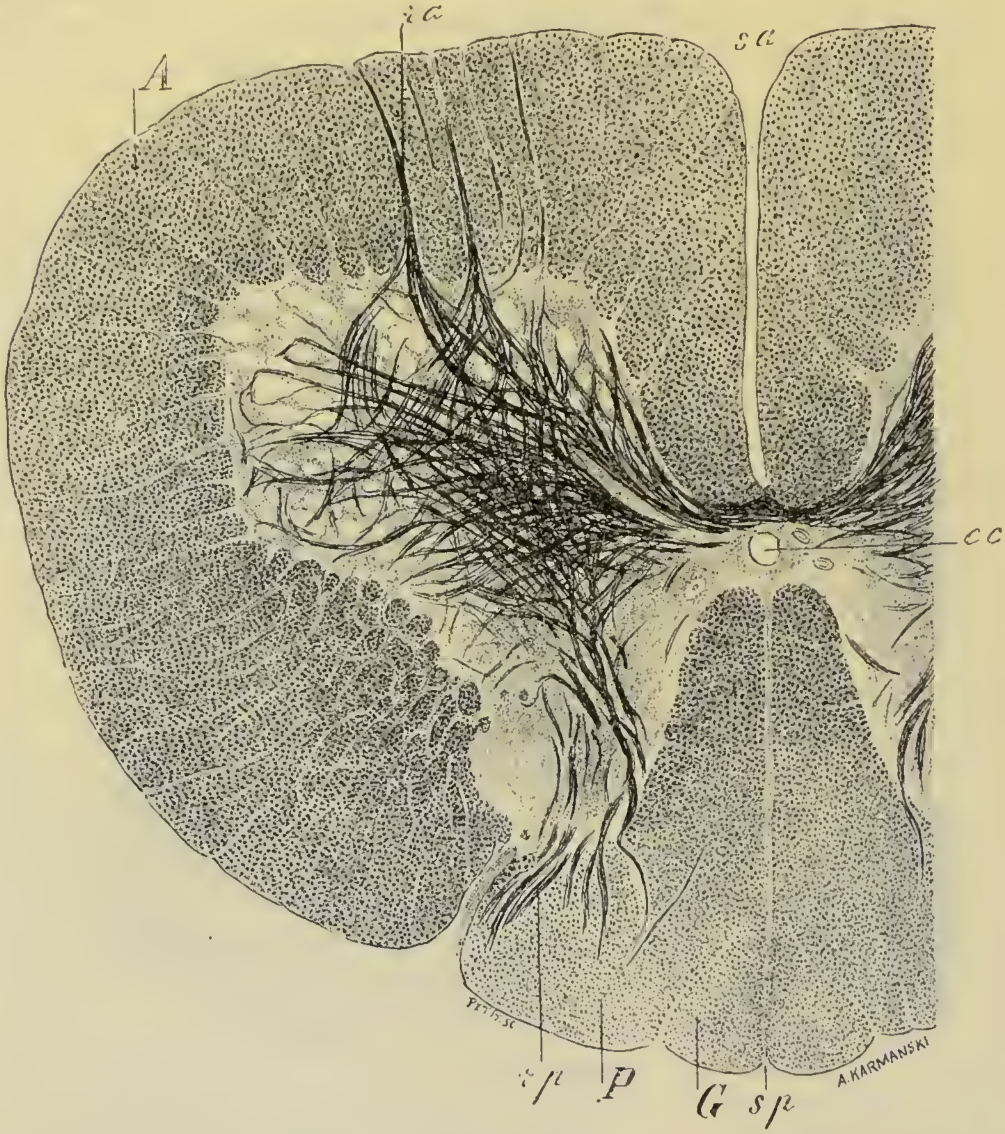


Fig. 404. — Coupe transversale de la moelle épinière du chien, dans la région lombaire. Coupe faite après l'action successive du bichromate d'ammoniaque et du chlorure d'or. — *A*, cordon antérieur; *P*, cordon postérieur; *G*, cordon de Goll; *sa*, sillon antérieur; *sp*, sillon postérieur; *cc*, canal central; *ra*, racine antérieure; *rp*, racine postérieure.

à la lumière du jour dans de l'eau légèrement acétifiée. Généralement, au bout de deux jours, la réduction de l'or est produite ; on complète le durcissement au moyen de l'alcool et on fait, au microtome, une série de coupes transversales à partir de la surface de section. La première et quelquefois la la seconde de ces coupes — cela dépend de l'épaisseur qu'on leur donne — doivent être rejetées, parce qu'elles sont chargées d'un dépôt granuleux et que les fibres à myéline ne sont pas colorées par l'or réduit ou le sont très incomplètement. D'habitude, c'est la troisième coupe, ou même la quatrième,

qui donne les images les plus démonstratives. On peut y voir les racines postérieures, après qu'elles ont traversé la substance blanche et la substance gélatineuse, s'engager dans les cornes postérieures, passer sur les côtés du canal central et atteindre, en grand nombre, les cornes antérieures pour s'entre-croiser avec des fibres provenant des racines antérieures. La commis-

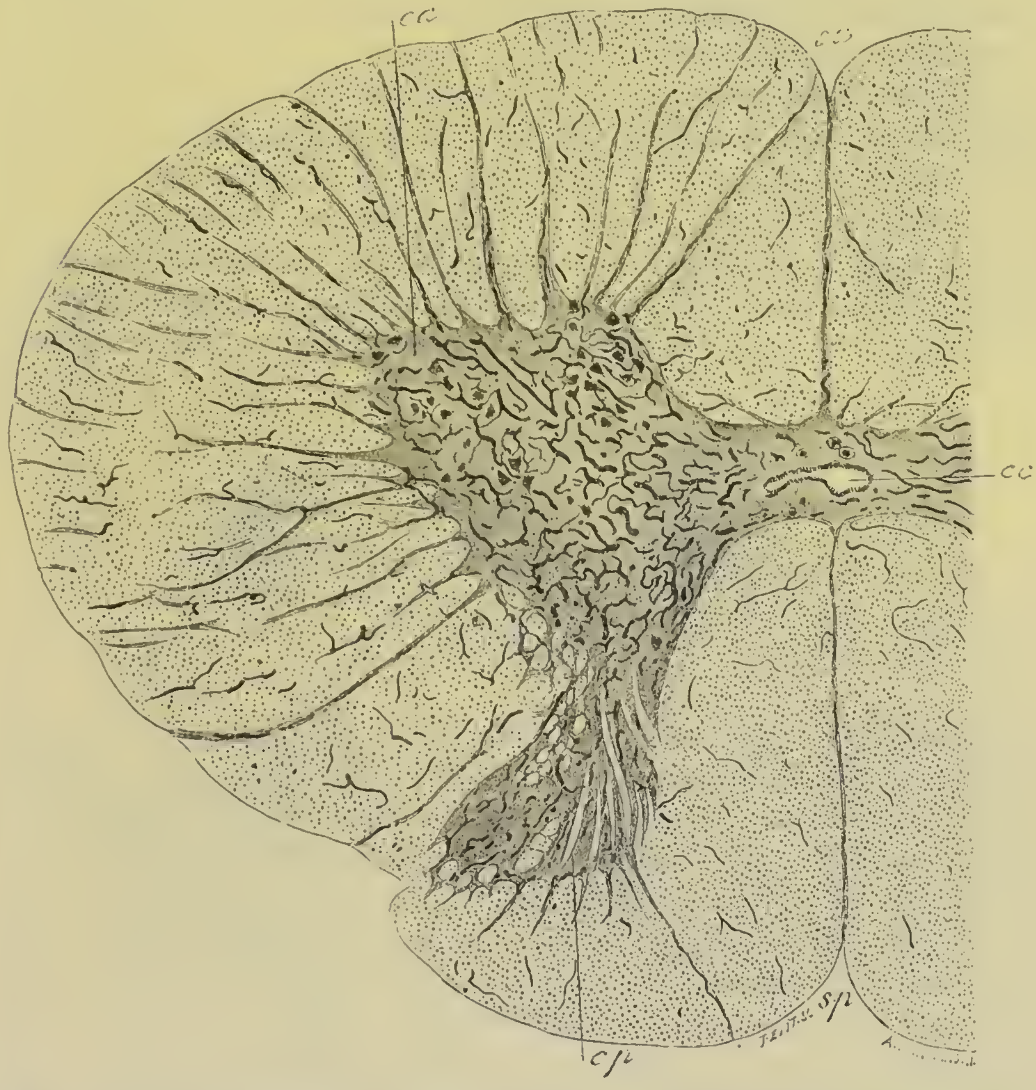


Fig. 405. — Coupe transversale de la moelle épinière du lapin, faite dans la région cervicale. Le système vasculaire tout entier de l'animal a été rempli d'une masse de bleu à la gélatine. La moelle a été durcie par l'action successive du liquide de Müller et de l'alcool. La coupe a été colorée au moyen du picrocarminate et montée dans la résine dammare, après avoir été déshydratée par l'alcool et éclaircie par l'essence de girofle. — *sa*, sillon antérieur; *sp*, sillon postérieur; *ca*, corne antérieure; *cp*, corne postérieure; *cc*, canal central.

sure blanche antérieure se voit aussi d'une manière remarquable dans ces préparations.

L'emploi de l'hématoxyline par la méthode de Weigert (voy. p. 95) conduit à des résultats semblables.

Les vaisseaux sanguins de la moelle épinière, comme cela a déjà été indiqué un peu plus haut, traversent la substance blanche; mais en chemin ils émettent des branches qui donnent, dans des cordons blancs, un réseau

capillaire dont les mailles forment des quadrilatères allongés suivant l'axe de la moelle épinière. Dans la substance grise, le réseau capillaire est beaucoup plus serré, ses mailles sont à peu près égales dans les différents sens. Le fait qui frappe surtout, c'est la richesse vasculaire beaucoup plus grande de la substance grise. Cela montre que la circulation y est plus active et qu'il s'y fait des échanges nutritifs plus importants, en un mot, que le rôle fonctionnel de cette substance est plus considérable que celui qu'on doit attribuer à la substance blanche.

Il est facile d'obtenir de bonnes préparations de la moelle injectée. Chez le lapin, par exemple, il suffit de faire une injection générale avec la masse de bleu de Prusse à la gélatine indiquée pages 106 et suivantes. Lorsque l'animal est suffisamment refroidi, on ouvre le canal vertébral avec une pince coupante ; la moelle, enlevée avec soin, est placée dans le liquide de Müller ; on complète le durcissement avec l'alcool. Les coupes sont colorés au picrocarminate avant d'être montées dans le baume du Canada ou la résine dammare.

CHAPITRE XXII

CERVEAU

Presque toutes les méthodes que l'on emploie pour faire des préparations histologiques de la moelle épinière conviennent aussi pour l'étude du cerveau. Cependant on ne peut y faire de ces injections interstitielles d'acide osmique dont le but est de faire pénétrer le réactif tout autour des éléments que l'on se propose de saisir vivant encore et d'immobiliser dans leur forme (voy. p. 796 et 812). En effet, lorsque l'on essaye de pratiquer des injections interstitielles soit dans la substance blanche, soit dans la substance grise des hémisphères cérébraux, on voit le liquide refluer le long de la canule dans le trajet qu'elle s'est creusé au sein de la substance cérébrale; mais il ne pénètre pas cette substance.

Le tissu cérébral est donc imperméable, et en cela il s'éloigne de celui de la moelle épinière, dont les différents éléments, aussi bien dans la substance blanche que dans la substance grise, s'écartent les uns des autres pour livrer passage à la masse d'injection.

De là il résulte que les différents éléments qui composent le cerveau sont unis ou soudés assez solidement ensemble par un ciment qui fait défaut dans la moelle épinière. C'est là un point qui n'est pas sans importance, et pour la technique histologique du cerveau, et pour la nutrition de cet organe.

L'alcool au tiers est le meilleur réactif dissociateur des couches corticales du cerveau ; il permet d'obtenir, complètement isolés, les cellules nerveuses et les éléments de la névroglie. Pour en faire des préparations à l'aide de ce réactif, on suivra exactement la méthode indiquée à propos de la moelle

épinière (voy. p. 810) : ou bien, une petite portion du cerveau ayant séjourné vingt-quatre ou quarante-huit heures dans l'alcool au tiers, on enlèvera de la couche corticale de petits fragments que l'on dissociera sur la lame de verre, dans un peu d'eau, à laquelle on ajoutera une goutte d'une solution de picrocarminate à 1 pour 100. On obtient ainsi des cellules dont la forme et la dimension sont variables. Les plus remarquables, celles dont le type est vraiment cérébral, ont la forme d'un cône très allongé, de la base duquel se



Fig. 406. — Couche corticale du cerveau du chat adulte, dissociée après l'action de l'alcool au tiers. — *a*, *b*, *c*, *d*, quatre cellules de la névroglie dont on voit les noyaux *n'*, les prolongements fibrillaires plus ou moins dégagés de la substance granuleuse qui les encombre ; entre ces éléments se voit une grande cellule pyramidale de l'écorce cérébrale avec son noyau *n*, ses prolongements protoplasmiques *p* et son prolongement cylindraxile *D*.

dégagent un prolongement qui se présente avec tous les caractères du prolongement cylindraxile ou de Deiters et un nombre variable de prolongements protoplasmiques ramifiés. Le sommet du cône correspond à un prolongement protoplasmique qui se dirige vers la surface; quelquefois ce prolongement se bifurque, comme cela est représenté dans la figure 406. Le noyau ganglionnaire est situé près de la base de la cellule. Tout autour de cette cellule conique ou pyramidale sont distribués des éléments de la névroglie, tels qu'ils se montraient dans la préparation. Ces éléments, qui correspondent aux cellules de la névroglie de la moelle épinière (voy. fig. 406),



Fig. 407. — Les cinq couches de l'écorce grise du cerveau de l'homme d'après Meynert : figure schématique pour la démonstration.

sont bien moins nets et beaucoup moins résistants que ceux de cet organe. Leur noyau, la petite masse de protoplasma qui l'entoure et les prolongements qui s'en dégagent sont encombrés d'une substance granuleuse, presque complètement enlevée en *d* par la dissociation et de plus en plus abondante dans les éléments *c*, *b* et *a*, dont la dissociation a été de moins en moins complète.

Les préparations faites au moyen de l'alcool au tiers ne permettent pas de voir quelle est la nature de cette substance granuleuse. L'application d'autres méthodes montre qu'elle est complexe et que dans la masse qui englue les cellules de la névroglie il y a certainement des débris de divers éléments : par exemple, des débris de prolongements protoplasmiques, de cellules ganglionnaires et même de fibres nerveuses à myéline. Mais il y a nécessairement autre chose : car, si les divers éléments qui entrent dans la constitution de l'écorce cérébrale et même de la substance blanche du cerveau n'étaient pas réunis par une substance cimentante névroglique, les injections interstitielles devraient y réussir, comme dans la moelle épinière; le liquide injecté devrait se répandre autour des cellules ganglionnaires, des fibres nerveuses et des éléments de la névroglie.

Avant d'aller plus loin dans la description des éléments qui composent l'encéphale, il importe de

les examiner dans des coupes. Les coupes du cerveau de l'homme, du singe, du chien, du lapin ou de tout autre mammifère, faites dans différentes directions, après durcissement par le bichromate d'ammoniaque, le bichromate de potasse ou l'acide chromique, ne montrent jamais les fibres de la névroglie aussi nettement que dans la moelle épinière, même en employant les meilleures méthodes de coloration, notamment la coloration en masse dans le picrocarminate. Celles de ces coupes qui sont faites perpendiculairement au pli que forme une circonvolution dans les zones psycho-motrices, permettent de reconnaître toutes les couches qui ont été décrites dans l'écorce du cerveau, par exemple les cinq couches admises par Meynert (fig. 407) et qui sont :

1° La couche granuleuse;

2° La couche des petites cellules pyramidales;

3° La couche des grandes cellules pyramidales;

4° La couche des petites cellules irrégulières;

5° La couche des cellules fusiformes.

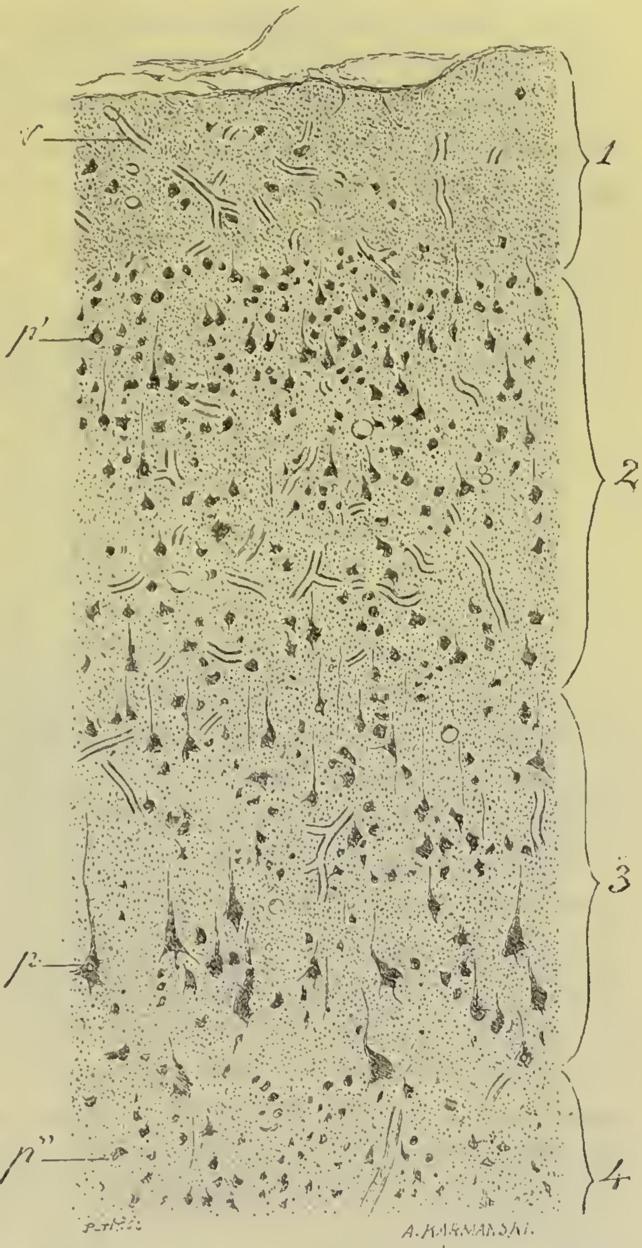


Fig. 408. — Coupe d'une circonvolution frontale d'un singe (*Macacus cynicus*), faite après durcissement par l'action successive du bichromate d'ammoniaque et de l'acide chromique; coloration en masse par le picrocarminate. 1, couche granuleuse; 2, couche des petites cellules pyramidales; 3, couche des grandes cellules pyramidales; 4, couche des petites cellules irrégulières; *v*, vaisseau sanguin; *p*, grande cellule pyramidale; *p'*, petite cellule pyramidale; *p''*, cellule nerveuse, irrégulière.

Si l'on examine des coupes des différentes régions du cerveau, on reconnaît que l'épaisseur relative de ces couches est variable : quelques-unes peuvent manquer, d'autres prennent une importance considérable, par exemple la couche des grandes cellules pyramidales dans les régions psycho-motrices.

Dans la moelle épinière, les cellules ganglionnaires sont tellement grandes et sont si bien dessinées que, dans une coupe, on ne pourra pas les confondre avec les cellules de la névroglie. Dans le cerveau, tout au contraire, on

confondra facilement de petites cellules ganglionnaires avec des cellules de la névroglie, d'autant plus que les réactifs durcissants que l'on emploie d'habitude pour les préparations du cerveau amènent, dans les cellules, des altérations de forme très variées et souvent considérables qu'il faut bien connaître si l'on veut interpréter sagement les préparations.

Faisons remarquer, d'abord, que des fragments du cerveau plongés dans le bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100 prennent une consistance convenable, pour les coupes, bien plus rapidement que des segments de la moelle épinière de même volume; néanmoins, si l'on a placé dans le même bocal un fragment d'encéphale et un segment de moelle, on peut attendre, pour couper le cerveau, que la moelle soit complètement durcie, ce qu'il ne faudrait pas faire si l'on avait employé l'acide chromique et même le bichromate de potasse, parce qu'à la longue le tissu cérébral y devient cassant.

Dans les coupes faites après durcissement par le bichromate d'ammoniaque, colorées par le picrocarminate et conservées dans la résine dammare, les cellules ganglionnaires se présentent sous des formes variées et même tout à fait inattendues. Quelques-unes ont bien la forme qu'on a l'habitude de leur considérer, la forme pyramidale, et ont pris, sous l'influence du carmin, une teinte rosée qui les fait reconnaître au milieu des éléments qui les entourent; mais un grand nombre sont remplacées par des espaces clairs, sorte de vacuole dans laquelle le noyau ganglionnaire se montre nettement. La vacuole qui remplace une cellule pyramidale présente un prolongement également clair, se dirigeant vers la surface et correspondant au gros prolongement protoplasmique de la cellule cérébrale.

Dans les cellules qui sont teintées par le carmin et qui ont une forme franchement pyramidale, le noyau ganglionnaire est généralement déformé, ratatiné; souvent il est méconnaissable. Les cellules teintées et les cellules qui ont subi la transformation vacuolaire ne correspondent pas plus les unes que les autres à des formes normales. Cependant les premières donnent mieux l'idée de la forme réelle des cellules ganglionnaires du cerveau, et généralement ce sont elles qu'on représente. On peut obtenir des préparations dans lesquelles presque toutes les cellules ganglionnaires se montrent ainsi, par exemple, en soumettant le cerveau à l'action successive des bichromates alcalins et de l'acide chromique (voy. p. 806), en colorant ensuite en masse par le picrocarminate et choisissant enfin parmi les coupes successives que l'on pratique à partir de la première surface de section. C'est ainsi qu'a été faite la préparation dessinée figure 408.

Lorsque la moelle épinière a été durcie par un séjour d'un an, au moins, dans une solution de bichromate d'ammoniaque à 2 pour 100, les coupes, colorées par la purpurine ou par l'hématoxyline nouvelle (voy. p. 822), montrent les noyaux des cellules de la névroglie colorés en rose par la purpurine, en violet par l'hématoxyline, tandis que les noyaux des cellules ganglionnaires sont incolores. Un fragment de cerveau soumis, pendant un an aussi, à l'action durcissante du bichromate d'ammoniaque, donne, sous l'influence des mêmes matières colorantes, des résultats un peu différents. Les

noyaux des cellules de la névroglie sont colorés exactement comme dans la moelle épinière; mais les noyaux des cellules ganglionnaires ne sont pas incolores. La teinte qu'ils présentent est seulement beaucoup plus pâle que celle des noyaux névrogliques. Je l'ai trouvée à peine marquée dans des coupes de la substance corticale d'un cerveau de chien qui, faites après un séjour d'un an dans le bichromate d'ammoniaque, ont été conservées pendant plusieurs mois dans l'alcool ordinaire. Après avoir coloré ces coupes par un séjour de vingt-quatre heures dans l'hématoxyline nouvelle, les ayant soumises à l'action de l'éosine avant de les monter dans la résine dammare, j'ai obtenu des préparations dans lesquelles tous les noyaux des cellules nerveuses étaient colorés en rouge, tandis que les noyaux des cellules de la névroglie étaient violets. On peut arriver ainsi à une distinction excessivement importante : celle des cellules nerveuses et des cellules de la charpente connective du cerveau.



Fig. 409. — Coupe de la substance grise corticale du cerveau du chien, faite après durcissement complet par le bichromate d'ammoniaque; coloration double par l'éosine et l'hématoxyline nouvelle; la préparation est conservée dans la résine dammare. — *a*, cellule pyramidale rétractée; *b*, cellule pyramidale vacuolisée; *n*, noyau ganglionnaire d'une de ces cellules; *n'*, noyau d'une cellule de la névroglie.

Dans ces préparations, les noyaux des cellules de la névroglie se distinguent, non seulement par la coloration, mais encore par la grandeur et la structure. Les noyaux de la névroglie sont beaucoup plus petits que les noyaux ganglionnaires. Les cellules qui les entourent peuvent subir la transformation vacuolaire, exactement comme les cellules nerveuses. Au contact des cellules ganglionnaires, des cellules pyramidales, principalement, on observe presque toujours dans les coupes un ou deux noyaux de la névroglie. Parfois la cellule, à laquelle correspond un de ces noyaux, a été transformée en une grande vacuole qui se confond avec la vacuole formée par une cellule ganglionnaire (voy. *n*, fig. 409) : d'autres fois, les vacuoles névrogliques refoulent la cellule ganglionnaire et en compriment la substance, qui est devenue plus dense et qui a fixé une plus grande quantité de matière colorante.

Toutes les cellules ganglionnaires du cerveau sont dans la substance

grise : la substance blanche n'en contient pas. On y observe seulement des fibres nerveuses et les éléments de la névroglie dont les caractères ne diffèrent pas dans les deux substances. Il y a des fibres nerveuses à myéline non seulement dans la substance blanche, mais encore dans la substance grise. Déjà, dans les coupes bien colorées au moyen du picrocarminate, on reconnaît, sans difficulté, des faisceaux de fibres nerveuses qui s'élèvent perpendiculairement de la substance blanche dans les couches profondes de la substance grise et dont quelques-unes peuvent être suivies jusqu'au voisinage des prolongements cylindraxiles des cellules pyramidales. Les mêmes préparations permettent d'observer dans la substance grise des tubes nerveux à myéline, ayant des orientations très variées. Elles s'y présentent, en effet, en travers, en long et dans toutes les positions intermédiaires.

On sait également, depuis longtemps, d'après une observation de Remak, que, dans la couche granuleuse superficielle du cerveau, il y a un nombre considérable de fibres nerveuses à myéline dont le trajet est parallèle à sa surface et qui s'entre-croisent. Pour observer ces fibres, il suffit, après avoir enlevé les méninges, de faire, sur un cerveau tout à fait frais, une coupe tangentielle mince et étendue, de la porter sur une lame de verre et d'y ajouter une goutte de solution de potasse diluée ; mais il est préférable d'enlever un segment de l'écorce cérébrale ayant cinq ou six millimètres d'épaisseur, de le porter dans une solution d'acide osmique à 1 pour 500 et, lorsqu'il y a séjourné quelques heures, de le placer dans l'eau pour le débarrasser de l'excès d'acide osmique et d'enlever alors de la surface une tranche aussi mince que possible, que l'on monte en préparation dans la glycérine.

On y voit, à un grossissement moyen, un nombre considérable de tubes nerveux à myéline, dont le trajet est parallèle à la surface. Sur aucun de ces tubes on n'observe rien qui rappelle les étranglements annulaires ; s'ils existaient sur les fibres nerveuses du cerveau, ils n'échapperaient certainement pas dans ces conditions d'observation. Il n'y a donc pas plus d'étranglements annulaires et de membrane de Schwann dans les fibres à myéline du cerveau que dans celles de la moelle épinière.

Exner[1] a fait connaître une méthode qui a singulièrement étendu les anciennes observations de Remak, car, grâce à elle, on peut reconnaître, sans difficulté, qu'il y a, dans toute l'écorce grise du cerveau, un nombre considérable de fibres à myéline de calibre varié, orientées dans tous les sens. Cette méthode est la suivante : on place de tout petits fragments de la substance corticale du cerveau dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 ; il faut que les fragments soient assez petits pour qu'après un séjour de vingt-quatre heures dans le réactif, les coupes que l'on en fait soient noires dans toute leur étendue. Ces coupes doivent être perpendiculaires à la surface.

En les examinant dans l'eau, à un faible grossissement, on reconnaît, dans

1. *Exner*, Zur Kenntniss vom feineren Baue der Grosshirnrinde. (*Acad. des Sciences de Vienne*, 1881.)

la substance corticale, qui est colorée en gris plus ou moins foncé, les cellules ganglionnaires formant autant de taches claires dont la forme est caractéristique. Entre ces cellules, on a peine à distinguer, même à un grossissement considérable, et sur des coupes fines, les fibres nerveuses, au milieu de la substance granuleuse qui les enveloppe (fig. 410) ; mais, si l'on ajoute une goutte d'ammoniaque à la préparation, on voit le tissu se gonfler, et apparaître, entre les cellules nerveuses, un nombre très considérable de petits tubes nerveux à myéline dont le trajet affecte des directions très variées.

Ces préparations ne sont pas persistantes. Conservées dans la glycérine, elles perdent rapidement leur netteté, et déjà le lendemain, elles ne sont plus démonstratives. J'ai trouvé un procédé qui permet de conserver des préparations faites par la méthode d'Exner. Lorsqu'on a ajouté de l'ammoniaque et que, la coupe s'étant gonflée, les fibres à myéline sont devenues bien nettes, on soumet la préparation aux vapeurs d'acide osmique. Pour cela, on met quelques

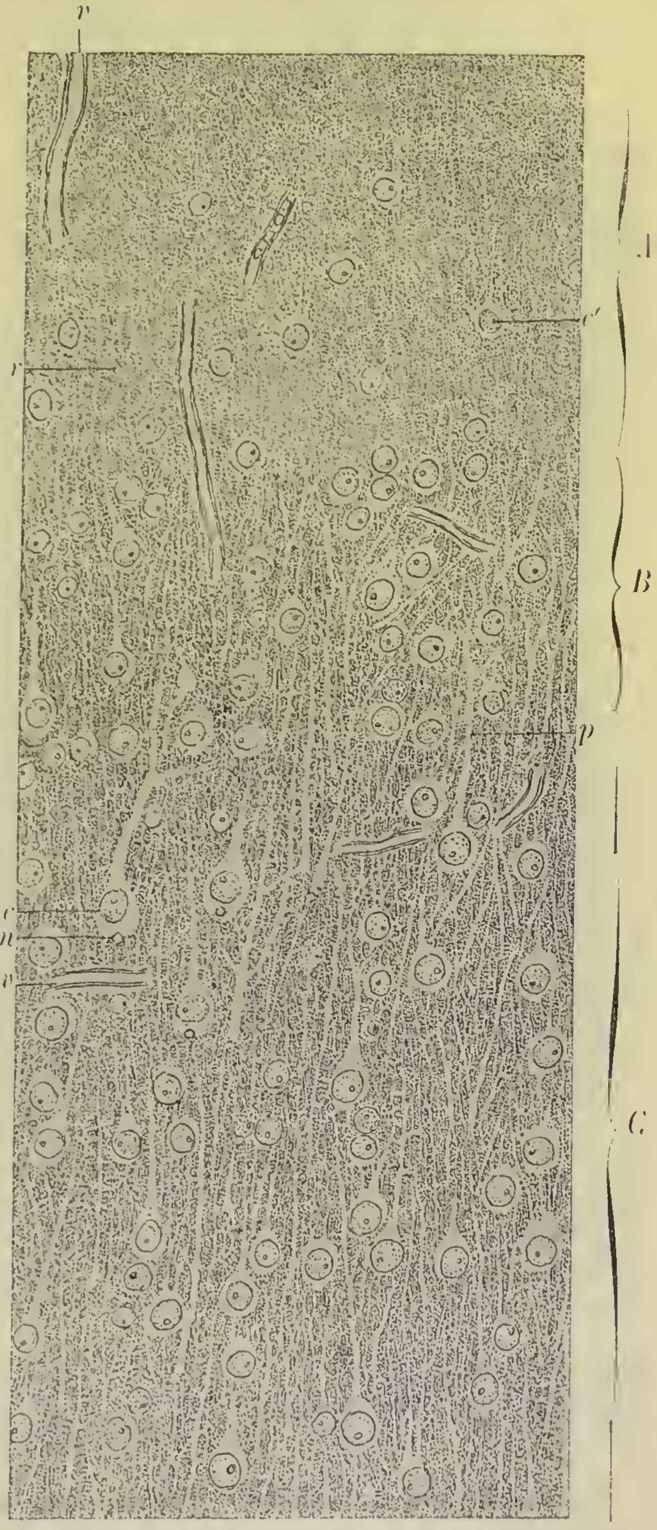


Fig. 410. — Coupe d'une circonvolution frontale du chien, faite perpendiculairement à la surface. Un très petit fragment de la circonvolution a été placé dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100 pendant vingt-quatre heures, puis dans l'eau pendant deux heures, et dans l'alcool ensuite pendant vingt-quatre heures. C'est sur ce petit fragment inclus dans le mélange de cire et d'huile que les coupes ont été faites; elles ont été montées en préparation dans de l'eau phéniquée. — *A*, couche granuleuse dans laquelle on observe quelques cellules ganglionnaires polygonales *c'* et un réticulum *r* formé par les prolongements protoplasmiques des cellules pyramidales comprises dans les couches sous-jacentes : celle des petites cellules pyramidales, *B*, et celle des grandes cellules pyramidales, *C*; *c*, une des cellules pyramidales, à la base de laquelle on aperçoit le noyau d'une cellule de la névroglie, *n* ; *v*, vaisseau sanguin.

gouttes d'une solution d'acide osmique à 1 pour 100 dans un petit baquet de verre. Puis, la lame de verre porte-objet sur laquelle repose le tissu imbibé d'ammoniaque est placée sur le baquet de verre, de telle sorte que le fragment de tissu, dirigé en bas, reçoive directement les vapeurs d'acide osmique. On recouvre d'une petite cloche. En général, au bout d'un quart d'heure, la fixation est produite; on peut ajouter de la glycérine, et la préparation conserve sa netteté (fig. 411).

Si l'on se propose d'étudier, sur des coupes, un cerveau difficile à durcir, comme celui des poissons cartilagineux, la raie ou la torpille, par exemple, on fera bien d'employer, au lieu des bichromates alcalins, ou de l'acide chromique, une méthode qui a été préconisée par Betz[1] : le cerveau tout entier est suspendu dans un flacon contenant de l'alcool auquel on a ajouté de l'iode jusqu'à lui donner une teinte jaune vineuse. Le lendemain, la coloration a disparu. On rajoute de l'iode pour la reproduire, et, tous les jours, on recommence cette opération jusqu'à ce que l'alcool iodé ne se décolore plus. Le cerveau est alors porté dans une solution de bichromate de potasse à 4 pour 100. Lorsqu'il y a séjourné quelques semaines, on le fait dégorger dans l'eau et on le place dans l'alcool ordinaire.

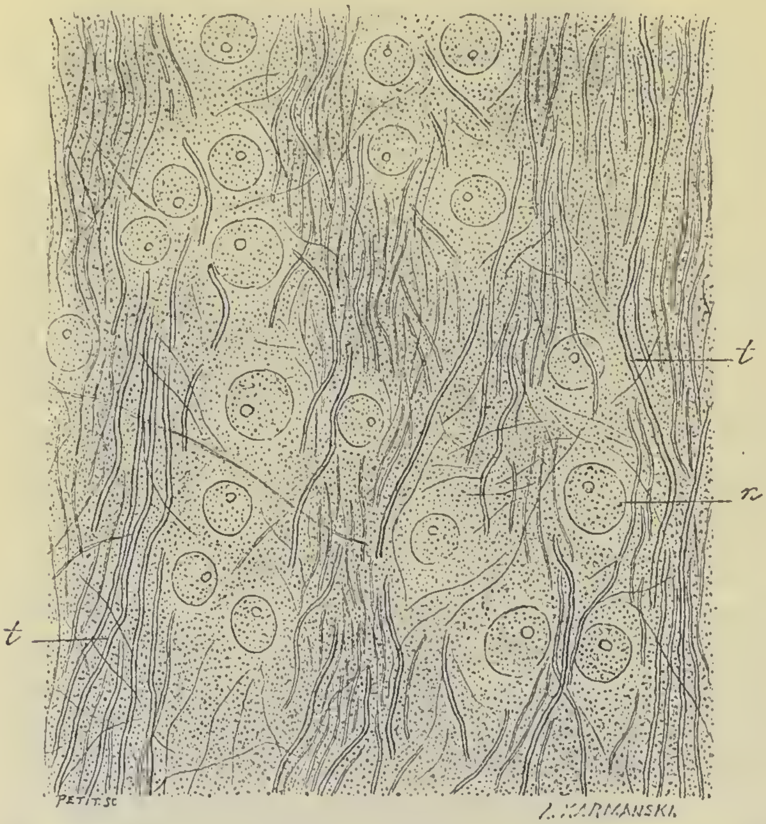


Fig. 411. — Une portion de la couche des petites cellules pyramidales de la substance grise corticale du cerveau du chien, durcie par l'acide osmique, observée dans une coupe faite perpendiculairement à la surface d'une circonvolution; cette coupe a été traitée par l'ammoniaque et soumise ensuite aux vapeurs d'acide osmique. — *n*, noyau ganglionnaire; *t*, fibre nerveuse à myéline.

Pour faire des coupes du cerveau des batraciens anoures et urodèles, j'emploie la méthode que j'ai recommandée pour les préparations de la rétine, en la modifiant légèrement : on met successivement le cerveau pendant vingt-quatre heures dans l'alcool au tiers, vingt-quatre heures dans une solution de picrocarminate à 1 pour 100, vingt-quatre heures dans une

1. *Betz*, Die Untersuchungsmethode des Centralnervensystems des Menschen. (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. IX, 1873, p. 101.)

solution d'acide osmique à 1 pour 500. Les coupes, dont les éléments sont admirablement colorés, sont montées dans la glycérine, ou mieux dans la résine dammare, après avoir été déshydratées par l'alcool absolu et éclaircies par l'essence de girofle. Les préparations sont belles et démonstratives, comme celles de la rétine.

La méthode de Golgi, qui consiste à faire agir successivement sur les tissus nerveux le bichromate de potasse ou d'ammoniaque et le nitrate d'argent, donne pour le cerveau des résultats intéressants (voy. pour la méthode, p. 817). Il est rare que, dans une coupe, toutes les cellules ganglionnaires et même toutes les cellules pyramidales soient dessinées nettement par l'argent; mais il suffit que la réaction soit nette pour quelques-unes d'entre elles. On peut reconnaître alors leurs différents prolongements protoplasmiques et leur prolongement cylindraxile qui, contrairement à ce que l'on croyait, peut, suivant l'observation de Golgi, se diviser à une certaine distance de sa cellule d'origine.

Le réseau capillaire du cerveau s'injecte aussi facilement que celui de la moelle. Des coupes du cerveau injecté, faites après durcissement par l'alcool, si l'injection a été faite avec la masse au carmin et à la gélatine, fournissent de très belles préparations. Les plus instructives cependant sont celles dans lesquelles, les vaisseaux ayant été injectés avec le bleu de Prusse, les éléments sont colorés au picrocarminate. On y voit les artérioles et les veinules, dégagées de la pie-mère, plonger perpendiculairement dans la substance cérébrale, en émettant des rameaux latéraux qui se rendent au réseau capillaire des différentes couches de l'écorce cérébrale. La plupart de ces artères et de ces veines se terminent, avant d'atteindre la substance blanche, en se divisant et se subdivisant, pour se perdre dans le réseau capillaire. Toute la région de l'écorce comprise entre la couche granuleuse superficielle et la substance blanche possède le plus riche réseau capillaire. C'est la région dans laquelle se trouvent les cellules nerveuses; mais il s'en faut que chacune de ces cellules soit comprise dans une maille capillaire. Dans chacune de ces mailles, on voit toujours, sur la coupe, au moins cinq ou six cellules nerveuses.

Le réseau capillaire de la couche granuleuse de la surface, celui des autres couches de l'écorce et celui de la substance blanche ont des branches communes, c'est-à-dire qu'ils communiquent entre eux.

CHAPITRE XXIII

CERVELET

Toutes les méthodes que l'on emploie pour observer les éléments et le tissu du cerveau peuvent être appliquées à l'étude du cervelet. Des coupes de cet organe, faites perpendiculairement à la direction des plis ou circonvolutions lamellaires de sa surface, après durcissement par le bichromate d'ammoniaque ou de potasse, ou par l'acide chromique, ou par l'action successive des bichromates alcalins et de cet acide, colorées par le carmin, quel que soit, du reste, le procédé employé, donnent toujours des préparations suffisantes pour acquérir les premières notions sur la structure du cervelet. Ces préparations sont extrêmement élégantes (fig. 412). On y voit les fibres nerveuses former une lame de substance blanche au centre de chaque pli: Cette lame est recouverte d'une couche de cellules dont les noyaux sphériques paraissent comme pressés les uns à côté des autres, et qu'on désigne sous le nom de couche des grains, parce qu'on l'a comparée à la couche des grains de la rétine, alors que l'on ne connaissait pas la véritable signification de ces grains qui appartiennent en réalité aux cellules visuelles et aux cellules bipolaires (voy. p. 754). Au-dessus des grains, se trouve une couche caractérisée par la présence de grandes cellules multipolaires comparables à celles de la rétine et connues sous le nom de cellules de Purkinje. Une troisième couche, qui s'étend depuis les cellules de Purkinje jusqu'à la surface, est l'analogue de la couche granuleuse des circonvolutions cérébrales.

Le cervelet durcit dans le bichromate d'ammoniaque aussi vite que le cerveau; mais on peut, sans inconvénient, le laisser séjourner un an dans ce réactif. Les fragments de cervelet que l'on suspend dans la solution de bichromate, pour les faire durcir, ne doivent pas avoir plus d'un centimètre de côté. Les coupes faites à main libre ou au microtome, colorées dans le picrocarminate, — il suffit d'un séjour d'une demi-heure à une heure dans ce réactif pour avoir une très bonne coloration, — montées dans le baume du Canada ou la résine dammare, en suivant les indications classiques, permettent, si elles sont assez minces, de reconnaître déjà une série de détails de structure.

Dans la couche des grains, on voit deux espèces de noyaux. Les plus nombreux sont petits, granuleux, disposés par groupes; les autres, franchement vésiculeux, plus gros, ayant un nucléole bien marqué, sont des noyaux ganglionnaires. Entre les groupes de noyaux granuleux se voit un plexus dont les nœuds sont assez étendus et semblent formés par un entre-croisement plexiforme de fibrilles nerveuses, comme celui qui constitue les cellules ganglionnaires de la moelle épinière. On dirait, en effet, des cellules

ganglionnaires sans noyaux. Cette interprétation paraît d'autant plus juste que, dans quelques-uns de ces entre-croisements plexiformes, on observe un des noyaux ganglionnaires de la couche des grains que nous venons de décrire.

Les cellules de Purkinje montrent un prolongement cylindraxile qui s'engage dans la couche dite des grains et la parcourt perpendiculairement ou

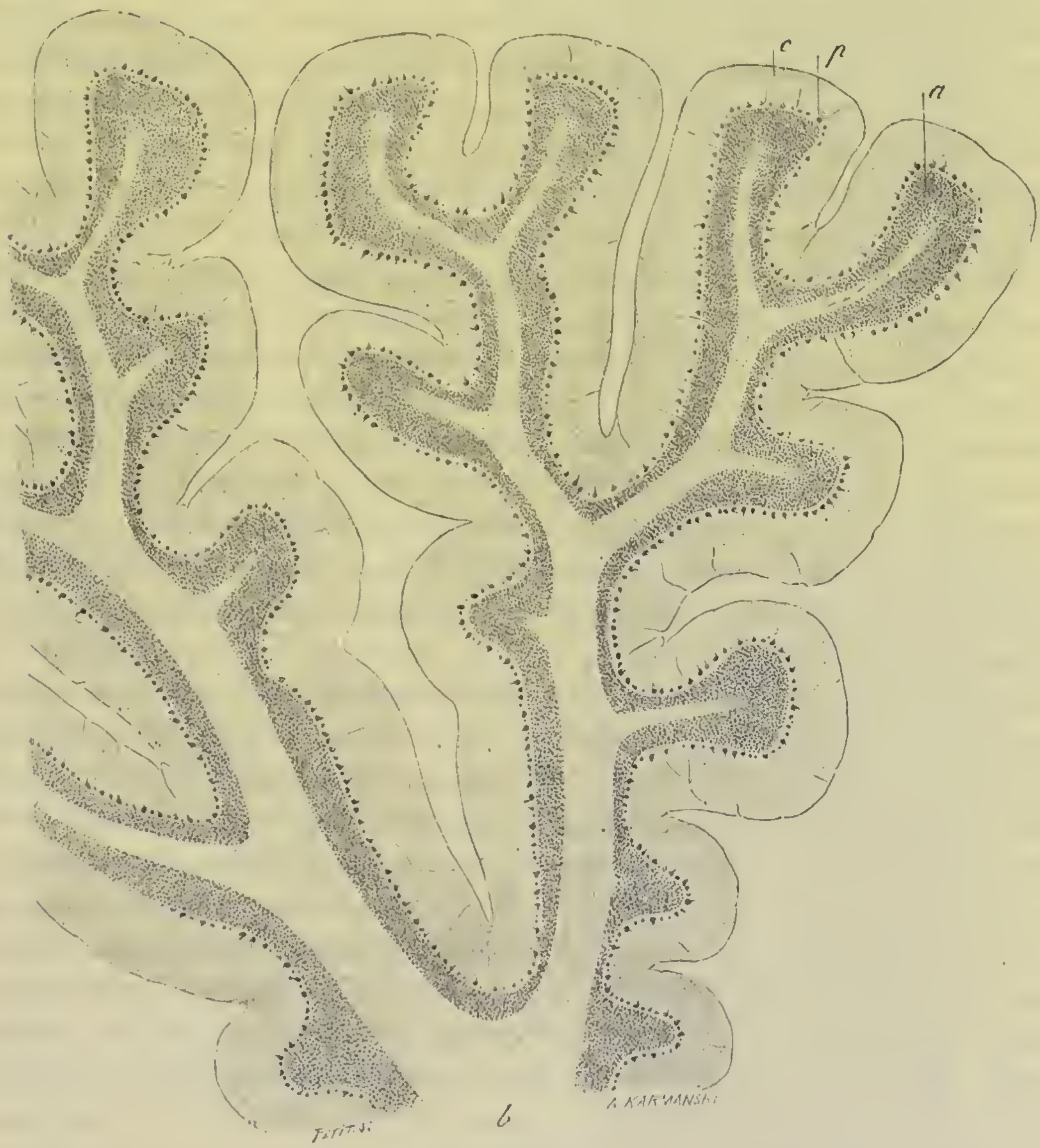


Fig. 412. — Coupe du cervelet du chien, faite perpendiculairement à la direction des plis cérébelleux, après durcissement par le bichromate d'ammoniaque; coloration par le picrocarminate. La coupe a été déshydratée par l'alcool absolu, éclaircie par l'essence de girofle et montée dans la résine dammare. — *a*, couche des grains; *p*, couche des cellules de Purkinje; *c*, couche granuleuse superficielle; *b*, substance blanche.

obliquement à sa surface. A côté des cellules de Purkinje, on observe souvent de petites cellules ganglionnaires analogues à celles de la couche des grains. Les prolongements protoplasmiques des cellules de Purkinje pénètrent au sein de la substance granuleuse, s'y divisent et s'y subdivisent en formant une riche arborisation dont on peut suivre les branches jusqu'à la surface. Ces branches semblent se perdre dans un plexus à la formation

duquel paraissent concourir également les fibres qui viennent des cellules ganglionnaires de la couche des grains et du plexus nerveux de cette couche.

Il y a quelques années, Denissenko[1], ayant traité des coupes du cervelet par l'hématoxyline et l'éosine, a remarqué qu'il y a dans la couche des grains deux espèces de cellules, les unes se colorant par l'hématoxyline et les autres par l'éosine.

Avant de décrire les préparations que fournit cette méthode, je dois indiquer l'action de quelques matières colorantes sur les coupes du cervelet durci par le bichromate d'ammoniaque, comme je l'ai fait pour le cerveau et la moelle épinière. Cette étude comparative, je conseille de la faire en mettant dans un même bocal contenant au moins un litre de la solution de bichromate d'ammoniaque, un segment de la moelle épinière, un fragment du cerveau et un fragment de cervelet, de les laisser séjourner un an dans la solution et de traiter ensuite des coupes de ces trois organes, en même temps, par la solution de purpurine et par l'hématoxyline nouvelle.

On reconnaît ainsi que les cellules de Purkinje résistent à la coloration, exactement comme les cellules nerveuses de la moelle, que les noyaux ganglionnaires de la couche des grains présentent seulement une teinte légère comme les noyaux des cellules nerveuses du cerveau, et que les autres noyaux de la couche des grains se colorent fortement, comme les noyaux de la névroglie de la substance blanche et de la substance grise de la moelle épinière, de la substance blanche et de la substance grise du cerveau et de la substance blanche du cervelet.

Évidemment, ces réactions n'ont qu'une valeur relative ; mais elles laissent supposer que les noyaux de la couche des grains qui se colorent par l'hématoxyline nouvelle et la purpurine, après que le cervelet est resté un an dans le bichromate d'ammoniaque, appartiennent à des cellules de la charpente connective de cet organe, et non pas à des cellules ganglionnaires.

Les coupes du cervelet, colorées par l'hématoxyline nouvelle, soumises ensuite, sur la lame de verre, à l'action de la solution alcoolique d'éosine préparée par le procédé de Fischer (voy. p. 89), montées enfin dans la résine dammare ou le baume du Canada, montrent les dispositions suivantes (fig. 415) : sont colorés en rouge, les cellules de Purkinje et leurs prolongements protoplasmiques, le plexus nerveux de la couche des grains ainsi que les noyaux des cellules multipolaires qu'il contient ; en violet, tous les noyaux qui constituent les grains, proprement dits. Dans les nœuds du plexus de la couche des grains on aperçoit un corps, généralement irrégulier, coloré en rouge, qui semble provenir d'un noyau atrophié par régression. Entre ces noyaux ratatinés et les noyaux vésiculeux de certains nœuds du plexus, très nettement colorés en rouge eux aussi, on observe des intermédiaires.

Dans la couche granuleuse, à l'aide de la méthode de double coloration, ou bien au moyen de la coloration simple par le picrocarminate, on reconnaît

1. *Denissenko*, Zur Frage über den Bau der Kleinhirnrinde bei werschiedenen Klassen von Wirbelthieren. (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. XIV, p. 205.)

sans peine trois espèces de noyaux : les uns appartiennent à de petites cellules nerveuses multipolaires, les autres à des cellules de la névroglie, d'autres enfin aux vaisseaux sanguins.

L'application de l'acide osmique l'étude du cervelet donne des résultats intéressants. De petits fragments des couches superficielles de cet organe, ayant 1 millimètre à 1mm 1/2 de côté, sont généralement colorés en noir dans toute leur masse après un séjour de vingt-quatre ou quarante-huit heures dans une solution d'acide osmique à 1 pour 100. Ils sont placés dans l'eau, pour enlever l'excès d'acide osmique, et ensuite dans l'alcool ; puis on y fait des coupes perpendiculaires à la direction des circonvolutions cérébelleuses. Dans ces coupes (fig. 414), chaque couche présente des caractères spéciaux : la substance blanche est maintenant la plus noire, parce qu'elle est formée de tubes nerveux dont la myéline réduit l'acide osmique ; la couche dite des grains est striée de noir et de gris ; les stries noires correspondent à des fibres à myéline qui, dégagées de la substance blanche, montent en très grand nombre au milieu de la couche des grains,

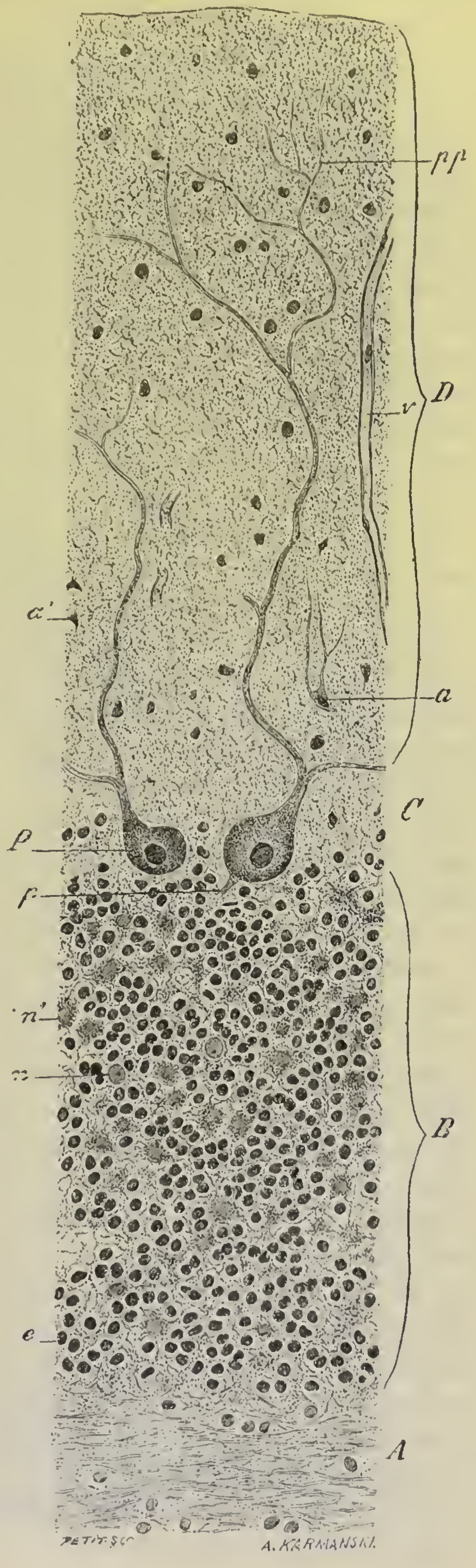


Fig. 415. — Coupe du cervelet du chien, faite perpendiculairement aux plis cérébelleux, après durcissement dans le bichromate d'ammoniaque, colorée par l'action successive de l'hématoxyline nouvelle et de l'éosine à l'alcool, montée dans la résine dammare, suivant les procédés classiques. — *A*, substance blanche ; *B*, couche des grains ; *C*, couche des cellules de Purkinje ; *D*, couche granuleuse superficielle ; *P*, cellule de Purkinje ; *p*, prolongement cylindraxile de ces cellules ; *pp*, prolongements protoplasmiques de ces cellules ; *e*, noyau névroglique de la couche des grains ; *n*, noyau ganglionnaire de cette couche ; *n'*, un de ces noyaux atrophié ; *a*, cellule ganglionnaire de la couche granuleuse ; *v*, vaisseau sanguin.

pour gagner, soit les cellules de Purkinje, soit la couche granuleuse superficielle. Quelques-unes de ces fibres ont un trajet à peu près direct ; mais le plus grand nombre suivent les travées du plexus nerveux de la couche des grains, arrivent dans les nœuds de ce plexus et s'entre-croisent avec d'autres fibres à myéline, avant de gagner la couche granuleuse superficielle.

Les cellules de Purkinje sont généralement fort nettes dans ces préparations; mais elles se présentent sous deux aspects qui tiennent simplement à l'action inégale du réactif. Elles sont granuleuses, colorées en gris, et leur noyau ganglionnaire est fort distinct, ou bien elles ont subi un certain retrait, sont déformées, sont plus fortement colorées par l'osmium, et dans leur intérieur on n'aperçoit pas nettement leur noyau ganglionnaire. Les prolongements protoplasmiques des cellules de Purkinje sont marqués en clair dans la substance granuleuse, et ils se perdent dans un réticulum dont les travées se dessinent également en clair. C'est l'inverse de ce que l'on observe dans les coupes du cervelet faites après l'action du bichromate et bien colorées par le picrocarminate.

Les petites cellules multipolaires de la substance granuleuse et les vaisseaux sanguins qui traversent cette substance sont ménagés en clair, comme les prolongements protoplasmiques des cellules de Purkinje.

Si l'on traite par l'ammoniaque les coupes du cervelet, faites comme il vient d'être indiqué, ce réactif n'y détermine pas un gonflement suffisant pour bien dessiner les fibres à myéline ; cela tient à l'action de l'alcool. Les mêmes observations peuvent être faites sur le cerveau. Il faut, pour réussir la réaction d'Exner, que les coupes soient faites sur le fragment du tissu au sortir de l'acide osmique. On reconnaît alors de la manière la plus nette que, contrairement à ce que l'on observe dans le cerveau, la couche granuleuse superficielle du cervelet ne contient pas de fibres à myéline, à l'exception pourtant d'une zone très étroite qui correspond à sa partie profonde, et seulement un peu au-dessus du corps des cellules de Purkinje. Si donc cette substance granuleuse se colore en noir sous l'influence de l'acide osmique, il ne faut pas attribuer cette coloration à la présence de fibres nerveuses, puisque les prolongements protoplasmiques des cellules de Purkinje, que l'on peut considérer comme des fibres nerveuses sans myéline, sont précisément ménagés en clair. Ce qui se colore en noir dans la couche granuleuse superficielle paraît donc être une substance graisseuse ou myélinique analogue à celle que l'on observe dans le plexus cérébral de la rétine (voy. p. 754), destinée à protéger et peut-être à isoler les éléments nerveux qui entrent dans la constitution du plexus cérébral de la rétine ou du plexus nerveux de l'écorce du cervelet. A la formation de ce dernier plexus, concourent les prolongements protoplasmiques des cellules de Purkinje, les prolongements externes des cellules ganglionnaires de la couche des grains et les fibres nerveuses du plexus de cette couche qui ne se perdent pas dans les cellules ganglionnaires.

La méthode de Golgi, cette méthode au moyen de laquelle on produit un dépôt de chromate d'argent dans les cellules nerveuses, en traitant des frag-

ments de la moelle, de l'encéphale ou du cervelet, successivement par le bichromate de potasse ou d'ammoniaque et le nitrate d'argent, donne, en ce qui regarde le prolongement cylindraxile des cellules de Purkinje, de très utiles renseignements. Les prolongements cylindraxiles, à une certaine distance de la cellule, se divisent pour former plusieurs fibres nerveuses, comme les prolongements cylindraxiles des cellules pyramidales de la couche corticale du cerveau.

Si l'on compare des coupes de la moelle épinière du cerveau et du cervelet du même animal, chien, chat, lapin, dont le système vasculaire sanguin a été injecté tout entier, on remarque que la substance granuleuse de l'écorce du cervelet, la couche des cellules de Purkinje et la couche des grains contiennent un réseau capillaire à

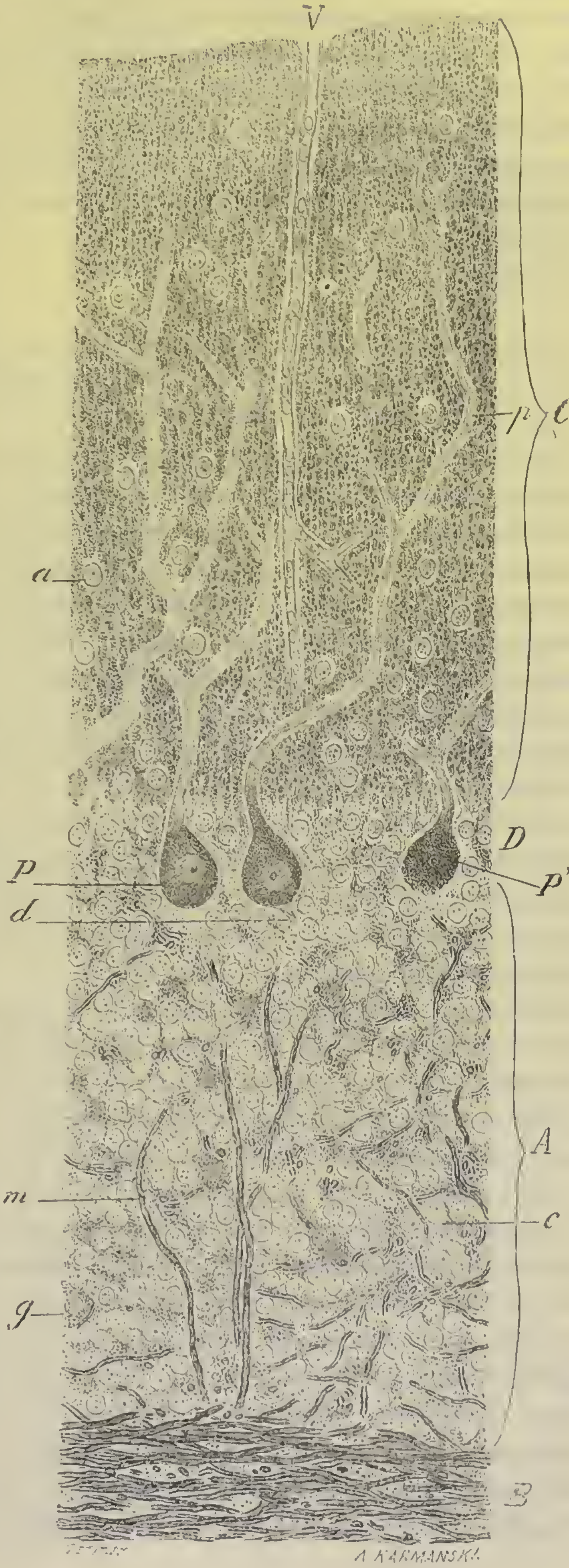


Fig. 414. — Coupe du cervelet du chien, faite perpendiculairement aux plis cérébelleux, après durcissement par l'action successive de l'acide osmique et de l'alcool. — *B*, substance blanche; *A*, couche des grains; *D*, couche des cellules de Purkinje; *c*, couche granuleuse superficielle; *P*, cellule de Purkinje, dont on aperçoit le noyau; *P'*, une de ces cellules dont le protoplasma est rétracté et dont on ne voit pas le noyau; *d*, prolongement cylindraxile; *p*, prolongement protoplasmique ramifié de ces cellules; *a*, noyau ganglionnaire de la couche granuleuse; *c*, noyau névroglique de la couche des grains; *g*, noyau ganglionnaire de cette couche; *m*, fibre nerveuse à myéline; *V*, vaisseau sanguin.

mailles serrées, comme la substance grise corticale du cerveau et la substance grise centrale de la moelle épinière. Ces trois couches du cervelet sont alimentées par le même réseau capillaire, et ce réseau est aussi serré dans l'une que dans les deux autres. Aussi, lorsque l'on examine des coupes faites après l'action de l'alcool, sans coloration, et dans lesquelles le réseau vasculaire est injecté d'une masse de carmin à la gélatine, à un grossissement assez faible pour que l'on ne puisse pas distinguer les éléments nerveux, est-il impossible, par la simple inspection du réseau capillaire, d'établir la démarcation de ces trois couches.

CONSIDÉRATIONS PHYSIOLOGIQUES ET MORPHOLOGIQUES SUR LES CENTRES NERVEUX

Par l'examen comparatif des coupes du cerveau, du cervelet et de la moelle dont les vaisseaux sanguins ont été injectés, on constate sans peine que ce sont les régions des centres cérébro-spinaux dans lesquelles se trouvent des cellules ganglionnaires qui possèdent le réseau vasculaire le plus riche. On a vu également que, dans le système sympathique, les ganglions ont un appareil vasculaire d'une grande richesse, tandis que les cordons nerveux sont aussi pauvres en vaisseaux sanguins que les nerfs du système cérébro-spinal. Les cordons blancs de la moelle épinière, la substance blanche du cerveau et du cervelet, sont alimentés par un réseau capillaire qui n'est guère plus serré. De tous ces faits, il faut conclure que dans le système nerveux le travail fonctionnel se produit surtout dans les centres ganglionnaires, et que la transmission des incitations motrices et des impressions sensitives, qui se fait par les nerfs, par les cordons blancs de la moelle épinière et par la substance blanche du cerveau, ne nécessite pas des échanges nutritifs importants et n'exige pas une grande activité organique.

La richesse vasculaire qui, dans tous les organes, paraît être en relation avec leur activité, dans les centres nerveux semble surtout nécessaire pour déterminer l'incitation motrice. Elle est grande en effet, dans les centres qui jouissent de cette propriété et dans lesquels on n'a pas encore découvert de sensibilité proprement dite, par exemple les ganglions purement sympathiques. Cela conduit nécessairement à poser la question, débattue depuis bien longtemps, de la division des cellules ganglionnaires en cellules motrices et en cellules sensitives. L'existence de cellules motrices est incontestable, elle est démontrée par les expériences que l'on a faites sur le cœur de la grenouille[1]; mais l'existence de cellules douées seulement de sensibilité n'est nullement établie. Nous avons vu, par exemple, dans la moelle épinière, les fibres des racines postérieures, qui sont sensitives, aller jusque dans les cornes antérieures, où se trouvent les cellules motrices. Quant aux cellules des ganglions spinaux, qui sont annexées à des fibres nerveuses purement sensitives, aussi bien que les cellules que l'on rencontre à la périphérie dans

1. Voir la note de la page 645.

des nerfs de sensibilité spéciale, comme le glosso-pharyngien ou l'acoustique, et les cellules multipolaires de la rétine pour le nerf optique, rien n'autorise à les considérer comme des cellules sensitives. Nous avons même été conduit à les rattacher aux cellules motrices, en ce sens qu'elles agiraient sur les tubes nerveux sensitifs qui sont en rapport avec elles pour diminuer ou pour atténuer leur irritabilité quand cela est nécessaire. Du reste, en bonne logique, il faut admettre que les cellules motrices sont sensibles; autrement, elles ne réagiraient pas sous l'influence d'une excitation venant du dehors, pour envoyer une incitation motrice.

A ce point de vue, il n'y a pas d'expérience plus intéressante que celle que l'on peut faire sur la torpille.

Chez cet animal, les nerfs de l'organe électrique, naissent de deux lobes cérébraux distincts (voy. p. 596 et fig. 276). Ces lobes sont entièrement formés de substance grise ; on y trouve un nombre considérable de cellules multipolaires, toutes semblables, dont les prolongements cylindraxiles forment les cylindres-axes des nerfs électriques. Ce sont même les cellules ganglionnaires sur lesquelles il est le plus facile, au moyen des injections interstitielles d'acide osmique, d'observer la formation d'une fibre nerveuse à myéline aux dépens d'un prolongement cylindraxile. Toutes ces cellules sont des cellules motrices, c'est-à-dire à action centrifuge. Or, il suffit de toucher très légèrement, après l'avoir mis à nu, le lobe électrique, pour déterminer de violentes décharges. De toutes les expériences que l'on peut faire sur le système nerveux pour démontrer le rôle important des cellules ganglionnaires et l'excitabilité ou sensibilité des cellules motrices, il n'y en a pas de plus nettes.

Les observations de Golgi sur la division des prolongements cylindraxiles des cellules ganglionnaires du cerveau et du cervelet rendent compte de certains phénomènes de la sensibilité que chacun peut observer sur lui-même, phénomènes qui consistent dans la sensation de picotements ou de douleur que l'on éprouve dans certaines régions de la peau ou des muqueuses, lorsqu'on irrite une tout autre région de la surface du corps. Ce phénomène semble résulter de ce que deux fibres nerveuses, venant, l'une de la région irritée, l'autre de la région à laquelle on rapporte la sensation, arrivent à la même cellule nerveuse. Avec les anciennes données de Deiters, d'après lequel le prolongement cylindraxile restait indivis, il était impossible de concevoir comment ce phénomène pouvait se produire.

L'observation des tubes nerveux en T des ganglions spinaux conduit à admettre qu'une fibre nerveuse peut être en rapport avec plusieurs cellules ganglionnaires. Il doit en être nécessairement ainsi pour les fibres nerveuses qui animent les faisceaux musculaires, parce que, en général, chaque faisceau des muscles striés ne reçoit qu'une fibre nerveuse et que cette fibre peut être mise en jeu, non seulement par la volonté, mais encore par une action inconsciente de la moelle épinière, ainsi que l'établit, d'une manière incontestable, l'expérience classique des mouvements réflexes, qui se produisent lorsqu'on a séparé la moelle du cerveau, et même lorsqu'on a complètement enlevé ce dernier organe.

Il est une question que nous avons négligée, avec intention, dans la description des préparations du cerveau, du cervelet et de la moelle épinière, parce qu'elle est très générale, et qu'on n'y peut répondre qu'autant qu'on envisage d'autres organes, par exemple les ganglions sympathiques et la rétine. Cette question est relative aux prolongements protoplasmiques des cellules ganglionnaires. Jusqu'à présent, il a été impossible de déterminer, par une observation directe, la terminaison ou les rapports ultimes de ces prolongements. Gerlach a bien dit que les prolongements des différentes cellules ganglionnaires voisines, dans les cornes de la moelle, s'anastomosent les uns avec les autres, en formant un réseau d'une délicatesse extrême; Golgi a bien soutenu que les prolongements protoplasmiques se continuent avec les fibres de la névroglie; mais ce sont là des hypothèses anatomiques, et, pour ma part, bien que j'aie appliqué à cette recherche les méthodes de Gerlach, celle de Golgi et même bien d'autres sur différents départements des centres nerveux, notamment sur le lobe électrique de la torpille où, la disposition des éléments nerveux n'étant pas compliquée, il devait être facile d'arriver à une solution, il m'a été complètement impossible de l'obtenir. Ainsi, pour se faire une opinion sur le sort des prolongements protoplasmiques des cellules ganglionnaires, il faut employer la méthode comparative, méthode extrêmement fructueuse, essentielle en anatomie générale.

Les cellules des ganglions sympathiques, comme on l'a vu (p. 792) chez les mammifères, sont multipolaires, et chaque prolongement devient fibre nerveuse.

Toutes les fibres du nerf optique passent dans le prolongement cylindraxile des cellules multipolaires de la rétine, de telle sorte que les impressions sensitives de cette membrane, pour arriver au cerveau, doivent nécessairement passer par les prolongements protoplasmiques des cellules multipolaires; et, comme la vision nette ne saurait se produire que si l'impression sur chaque cellule visuelle est transmise absolument distincte, il faut que la fibre nerveuse qui est chargée de cette fonction ne se confonde avec d'autres fibres sur aucun point de son trajet. Elle peut former avec elles des intrications plexiformes comme celles qui se produisent dans le plexus basal ou dans le plexus cérébral, voire même dans les cellules ganglionnaires; mais elle ne doit jamais se confondre avec d'autres fibres dans un véritable réseau nerveux.

Les prolongements protoplasmiques des cellules ganglionnaires sont donc des équivalents des fibres nerveuses, et tout porte à croire qu'ils sont en rapport avec des fibres de sensibilité et qu'ils sont chargés de transmettre des impressions sensitives. Mais, aujourd'hui, il n'y a pas de méthode histologique, je le répète, qui permette d'observer, d'une manière certaine, les relations des prolongements protoplasmiques des cellules ganglionnaires avec les fibres nerveuses, à plus forte raison, avec des fibres de la sensibilité générale ou spéciale.

TABLE DES MATIÈRES

LIVRE PREMIER

INSTRUMENTS ET RÉACTIFS

CHAPITRE PREMIER

MICROSCOPE

CHAPITRE II

INSTRUMENTS

CHAPITRE III

RÉACTIFS CHIMIQUES

CHAPITRE IV

CHAPITRE V

CHAPITRE VI

MÉTHODES DE DISSOCIATION ET DE DISSECTION

CHAPITRE VII

MÉTHODES POUR FAIRE LES COUPES MICROSCOPIQUES

CHAPITRE VIII

MÉTHODES DE COLORATION. — IMPRÉGNATIONS. — ÉCLAIRCISSEMENT DES OBJETS OPAQUES

CHAPITRE IX

MÉTHODES POUR INJECTER LES VAISSEAUX ET LES CONDUITS GLANDULAIRES

CHAPITRE X

MÉTHODES POUR LA CONSERVATION DES PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES

LIVRE DEUXIÈME

TISSUS

CHAPITRE PREMIER

LYMPHE

CHAPITRE II

SANG

CHAPITRE III

ÉPITHÉLIUMS

CHAPITRE IV

TISSU CARTILAGINEUX

CHAPITRE V

TISSU OSSEUX

CHAPITRE VI

TISSU CONJONCTIF

CHAPITRE VII

DÉVELOPPEMENT DU TISSU OSSEUX

CHAPITRE VIII

TISSU MUSCULAIRE

CHAPITRE IX

CŒUR

CHAPITRE X

ARTÈRES

CHAPITRE XI

VEINES

CHAPITRE XII

CAPILLAIRES

CHAPITRE XIII

CHAPITRE XIV

VAISSEAUX LYMPHATIQUES

CHAPITRE XV

GANGLIONS LYMPHATIQUES

CHAPITRE XVI

CHAPITRE XVII

NERFS

CHAPITRE XVIII

TERMINAISONS NERVEUSES MOTRICES

CHAPITRE XIX

TERMINAISONS NERVEUSES SENSITIVES

CHAPITRE XX

GANGLIONS NERVEUX

CHAPITRE XXI

MOELLE ÉPINIÈRE

CHAPITRE XXII

CERVEAU

CHAPITRE XXIII

CERVELET

TABLE

ALPHABÉTIQUE ET ANALYTIQUE

DES MATIÈRES

C

F

G

H

I

L

M

N

O

P

R

S

17050. — Imprimerie Générale A. Lahure, 9, rue de Fleurus, à Paris.

Ranvier, Traité technique d'Histologie.

Spectre solaire

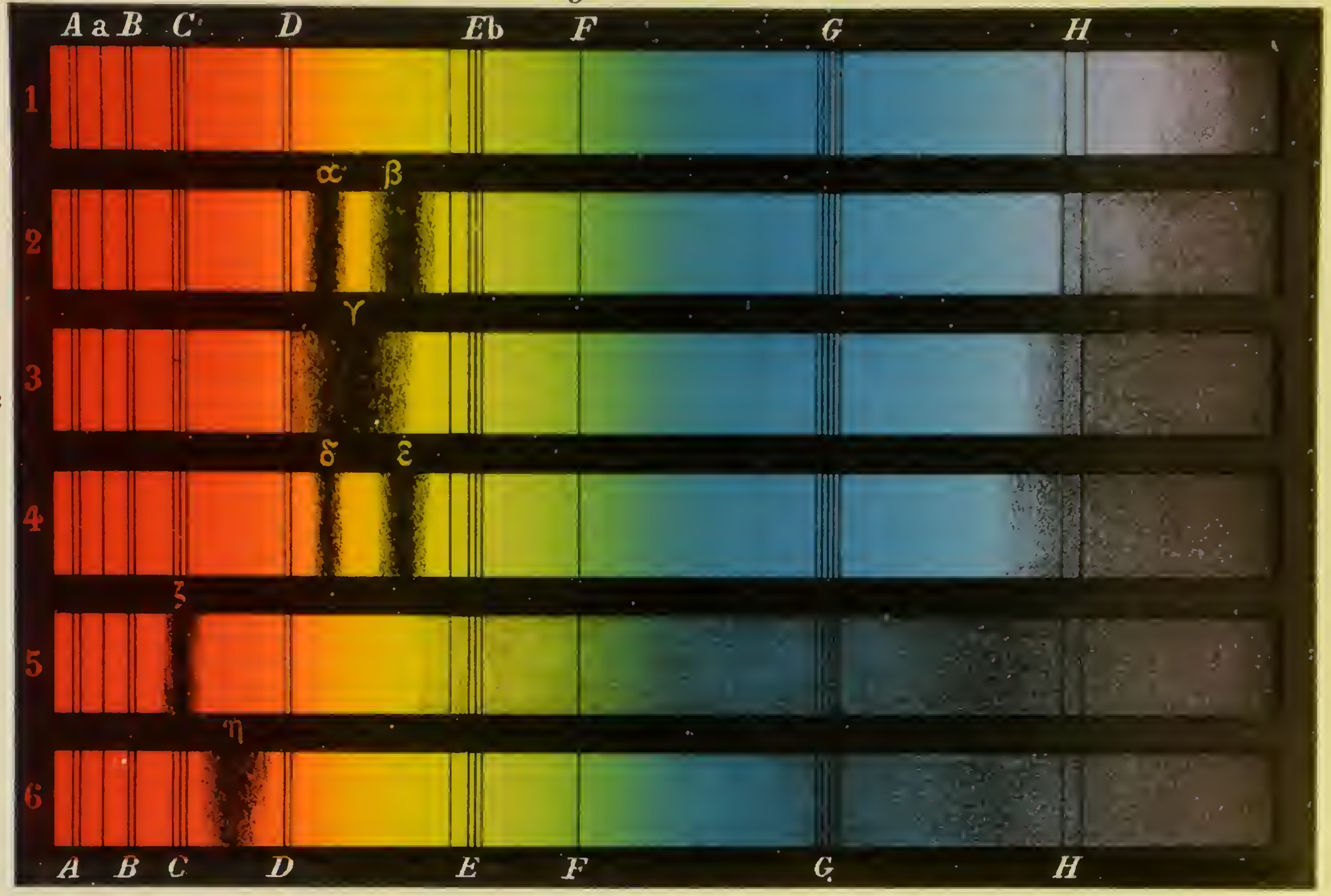
Hémoglobine oxygénée

Hémoglobine traitée par les agents réducteurs

Hémoglobine oxi-carbonique

Hématine en solution acide

Hématine en solution alcaline



Cottelot. del

F. Savy, Editeur à Paris.

Imp Dufrenoy, Paris.

LIBRAIRIE F. SAVY, 77, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

CHIMIE
APPLIQUÉE
A LA PHYSIOLOGIE
A LA PATHOLOGIE ET A L'HYGIÈNE

Avec les analyses et les méthodes de recherches les plus nouvelles

PAR ARMAND GAUTIER

PROFESSEUR DE CHIMIE MÉDICALE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

DEUX VOLUMES IN-8 DE 600 PAGES CHACUN, AVEC GRAVURES DANS LE TEXTE

Prix : 18 francs

Envoi franco en échange d'un mandat de poste

Un traité de chimie des *substances et des fonctions animales* est une œuvre éminemment utile. Un livre mettant le lecteur au courant des connaissances exactes si nombreuses et si nouvelles, que la physiologie, la pathologie et l'hygiène doivent aux progrès incessants des études chimiques modernes, est indispensable aux médecins, aux chimistes, aux pharmaciens, aux hygiénistes, etc.

La lecture de la première partie de l'ouvrage sera profitable à l'administrateur, à l'homme du monde, car, tout en restant rigoureusement un livre scientifique, il touche à un certain nombre de questions auxquelles toute personne instruite et tout esprit élevé ne peut rester indifférent.

Il a été divisé en trois parties qui traitent successivement des applications de la chimie à l'*Hygiène*, à la *Physiologie*, à la *Pathologie*.

Nous ne pouvons mieux faire apprécier l'importance de la publication du professeur A. GAUTIER qu'en donnant un aperçu très résumé de la Table des matières des deux volumes qui le composent.

EXTRAIT SUCCINCT DE LA TABLE DES MATIÈRES DU TOME PREMIER

PREMIÈRE PARTIE
CHIMIE APPLIQUÉE A L'HYGIÈNE

Chapitre Premier. — De l'air atmosphérique.

I. Composition et propriétés de l'air atmosphérique, p. 2. — II. Vapeur d'eau carbonique de l'air atmosphérique, p. 6. — III. Substances accessoires et impuretés de l'air, p. 12. — IV. Des modifications météorologiques de l'air atmosphérique, page 27.

Chapitre II. — Des aliments et de l'alimentation.

I. Aliments et principes alimentaires, 35. — II. Alimentation et rationnement, p. 85. — III. Les principaux aliments : pain, viande et dérivés, p. 99. — IV. Altération et conservation des aliments, page 127.

Chapitre III. — Des eaux.

I. De l'eau en général. — II. Des eaux potables. Des eaux courantes. Des eaux stagnantes, p. 153. — III. Rapport de la composition des eaux avec l'état de santé des populations, p. 179. — IV. Conservation et épuration des eaux, p. 188. — V. Essai des eaux et dosages spéciaux, page 191.

Chapitre IV. — Du milieu habité et de l'air confiné.

I. De l'habitation ; § 1. Habitation privée : cubage d'air, p. 203 ; § 2. Edifices publics; ventilation, p 205. — II. De l'air confiné, p. 215. — III. Des atmosphères professionnelles, p. 221-

DEUXIÈME PARTIE
CHIMIE APPLIQUÉE A LA PHYSIOLOGIE